

平成25年度

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

総括研究報告書

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

研究代表者 岡田全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター・
臨床研究センター長
(研究分担者 鈴木克洋 統括診療部長)

研究要旨 (図1)

・日本の外国人結核

1. 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年~2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping 博士等と)の作成が進展中。

2. 日本全国:2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009~2011年の調査票(外国人結核)。90%の回答。2121例(重複なし)を解析(岡田)。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに(2006年~2008年)外国人結核調査票と比較解析:前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕:日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応(大阪市等)。通訳を増加(行政サービス15%)。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。(結核2012,2013,UW Conf 2012)(岡田)さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌(S・S多剤耐性結核菌:我々が世界に先駆けて発見)が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S多剤耐性結核の患者の中国と日本の移動が示唆された。

神戸市の外国人結核(藤山理世・岡田)51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。

3. 国立国際医療研究センターにおける外国人結核と分子疫学研究:国際医療研究センターの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌168株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成(2013)。(小林、切替)

4. 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008~2012年に大阪市中で新規登録された外国人(外国出生)結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名(44.1%)であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられ

た。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。 大阪市の外国人結核対策マニュアル(2013)を作成。

. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. 東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では、多くの人が観光・ビジネスでそれぞれの国を訪れている。その際、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。日本では結核患者の約5%が外国出生であるが、結核菌の由来を明らかにすることは対策上重要であることから、それぞれの国内で広まっている結核菌の特徴を調べて比較することにした。東アジアでは結核罹患率が先進諸国に比べて高く、結核菌の型別では台湾を除き北京型結核菌の割合が高いなどの特徴を持っている。各国の分子疫学担当者と会議を持ち、各国で広まっている結核菌の遺伝的系統の違いを明確にするために、次世代シーケンサーを用いた解析から報告されている一塩基多型(SNP)分析法を利用した型別法で結核菌の解析を行った。本研究で樹立したSNPシステムは、リアルタイムPCRを利用して23箇所のSNPを検出するもので、結核菌を網羅的に解析することができる。今までの型別法では、北京型結核菌はNTF領域へのIS6110の挿入の有無で、ancient型とmodern型の2グループにしか分けることができなかった。しかし、本SNP分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると、少なくともancient型は4グループ、modern型も5グループに分けることができた。このような解析により、各国で広まっている結核菌の特徴を明らかにすることができるので、今後注目する結核菌が由来した国等の推定も可能となると考えられる。
2. VNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”、中国は北京型の“蔓延型”、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)

. アジア諸国の多剤耐性結核

1. 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例(95%)は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013)(服部)
2. フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012)(服部)
3. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。 初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。 複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。(野内)
4. ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。 HIV感染は、ビタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。 ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニューリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) さらに、結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討した。(タイ・ベトナム 櫻田)
5. ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。 結核感受性遺伝子の候補の一つとして注目され、機能的には細胞内シグナルに対して負の制御を行う脱リン酸化酵素であるdual specificity phosphatase 14遺伝子(DUSP14)の遺伝子多型と免疫関連遺伝子発現に関する検討を行った。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランス的作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。(慶長)

・ HIV合併

1. 国立病院機構 (NHO) 病院143施設に対して調査票を送り、2012年1月1日～12月31日の間のHIV感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。143施設中76施設(53.1%)から回答があった。総結核患者数は3502例であり、そのうちHIV合併者は10例(0.29%)であった。結核患者におけるHIV感染症合併の頻度はやや低下した。2012年はHIV合併多剤耐性結核を認めなかった。(永井)
2. 全国のHIV(エイズ)診療拠点病院、結核診療医療機関(国立病院機構を除く)、保健所を対象に、2012年におけるHIV合併結核およびそのうちの多剤耐性結核症例の有無に関する調査を行った。その結果、HIV合併結核のうち多剤耐性結核はこの1年間で1例(中国人)のみであり、国内のHIV感染者の間で多剤耐性結核が蔓延している状況はないと考えられた。医療機関からは合計32例のHIV合併結核症例が報告された。一方、保健所からの報告では結核新登録患者のうち0.28%がHIV合併結核であると報告された(多剤耐性結核は1例)。一方、結核医療機関における結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率は「ほぼ全例実施」が7施設6.9%と少なく、今後、多剤耐性結核とHIV合併の実態を正しく把握するためには、結核患者においてHIV感染の有無を確認する必要がある。(藤田)
3. 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い): HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。 LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、インターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。HIV感染が判明した時点で、インターフェロン 遊離試験を施行することは、結核症の早期診断に有用である。CD4値50/ μ L以下の症例では、判定できない症例も認めるため、抗HIV療法による免疫能の改善で測定可能となるまで検査を繰り返し施行することが望まれる。(青木)

・ 新しい迅速診断の開発・新治療剤(化学療法剤等)の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田、露口) 多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたらすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン(RFP)耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法として有用であると考えられた。
2. 結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1、HAS3の発現が、結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で亢進した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1の遺伝子欠損マウスは結核菌感染に対して高感受性であった。

・ 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。

・ 研究代表者(岡田全司)(表1, 2, 3, 4)

- (1) 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年～2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping博士等と)の作成が進展中。
- (2) 日本全国: 2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009～2011年の調査票(外国人結核)。90%の回答。2121例(重複なし)を解析(岡田)。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに(2006年～2008年)外国人結核調査票と比較解析: 前回の調査結果の

対策を厚生行政に反映、改善された結果]：日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。通訳を増加（行政サービス15%）。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。（結核2012,2013, U W Conf 2012）

- (3) 東京病院（豊田恵美子・岡田）では外国人結核50例解析。有空洞40%。多剤耐性結核2%。
- (4) 神戸市の外国人結核(藤山理世・岡田)51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。
- (5) 中国からの日本移民にスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核(MDR-TB)発見。
- (6) 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国Cho、タイSrisin、フィリピンDayrit、ベトナムThuong博士等と確立した結核ネットワークで蓄積。

・**研究分担者（小林信之）** 研究協力者 切替照雄 国際医療研究セの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌168株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成（2013）。

・**研究分担者（下内昭）** 研究協力者 松本健二、小向潤 2008～2012年に大阪市で新規登録された外国人（外国出生）結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名（44.1%）であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。大阪市の外国人結核対策マニュアル（2013）を作成。

・**研究分担者（加藤誠也）** IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。中国は“蔓延型”で、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。全23箇所のSNPを検出するためのリアルタイムPCR系を確立した。今まで北京型結核菌は、modern型とancient型の2群にしか分けられなかったが、本SNPシステムで日本の株はmodern型が5グループ、ancient型は4グループに細かくグループ分けができた。

・**研究分担者（永井英明）** HIV合併結核症例の解析。2007～2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例（0.42%）とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。

・**研究分担者（藤田明）** HIV合併結核を調査。全国531保健所、248結核病院（国立病院機構を除く）、230 HIV診療拠点病院（国立病院機構を除く）を対象。2007～2011年菌陽性121例（二次調査）中、多剤耐性結核1例（0.8%）、INH耐性8.3%、RFP耐性が1.7%（外国人）。HIV抗体検査なしの結核医療機関6割。結核病棟がないHIV拠点病院で排菌陽性疑い患者に個室や専用室を利用。

・**研究分担者（服部俊夫）** 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例（95%）は北京型であり、その中

2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出 multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013) フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012)

・**研究分担者 (櫻田紳策)** ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。 HIV感染は、ビタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。 ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニューリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) さらに、結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討した。

・**研究分担者 (慶長直人)** ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。 結核感受性遺伝子の候補の一つとして注目され、機能的には細胞内シグナルに対して負の制御を行う脱リン酸化酵素であるdual specificity phosphatase 14遺伝子(DUSP14)の遺伝子多型と免疫関連遺伝子発現に関する検討を行った。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。

・**研究分担者 (野内英樹)** タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。 初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。 複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。

・**研究分担者 (青木孝弘)** 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い): HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。 LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、インターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。HIV感染が判明した時点で、インターフェロン 遊離試験を施行することは、結核症の早期診断に有用である。CD4値50/μL以下の症例では、判定できない症例も認めるため、抗HIV療法による免疫能の改善で測定可能となるまで検査を繰り返し施行することが望まれる。

・**研究分担者 (竹田潔)** 結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1,HAS3の発現が、結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で亢進した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1の遺伝子欠損マウスは結核菌感染に対して高感受性であった。

・**研究分担者 (鈴木克洋)** 多剤耐性結核迅速発見法(rpo B変異)を用い、迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制構築(鈴木、露口、岡田)。この方法を6施設に普及。(結核2012)

研究分担者

永井英明
国立病院機構東京病院
呼吸器内科
外来診療部長

加藤誠也
公益財団法人結核予防会結核研究所
副所長

小林信之
国立病院機構東京病院
統括診療部長

藤田 明
東京都保健医療公社 多摩北部医療センター
副院長

服部俊夫
東北大学災害科学国際研究所
災害医学研究部門 災害感染症学分野
感染病態学
教授

下内 昭
公益財団法人結核予防会結核研究所
主幹

野内英樹
公益財団法人結核予防会複十字病院
臨床検査診断科
科長

慶長直人
公益財団法人結核予防会結核研究所
生体防御部
部長

櫻田紳策
国際医療研究センター研究所
国際医療協力局派遣協力課
派遣協力専門職

竹田 潔
大阪大学大学院医学系研究科
感染免疫医学講座免疫制御学
教授

青木孝弘
国立国際医療研究センター病院
エイズ治療・研究開発センター
医師

鈴木克洋
国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
統括診療部長

表1

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
網田全司班 平成25年度 第一回班会議

「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究代表者	網田 全司	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター センター長
研究分担者	永井 英明	国立病院機構東京病院 外来診療部長
	加藤 誠也	公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長
	小林 信之	国立病院機構東京病院 統括診療部長
	藤田 明	東京都立保健医療公社 多摩北部医療センター 呼吸器科 副院長
	服部 俊夫	東北大学 災害科学国際研究所 教授
	下内 昭	公益財団法人結核予防会結核研究所 主幹
	野内 英樹	公益財団法人結核予防会複十字病院 臨床検査診断科長
	慶長 直人	公益財団法人結核予防会結核研究所生体防御部 部長
	櫻田 紳策	国際医療研究センター研究所国際医療協力局派遣協力課
	竹田 潔	大阪大学大学院 医学系研究科感染免疫医学講座 免疫制御学 教授
	青木孝弘	国際医療研究センター病院エイズ治療・研究開発センター医師
	鈴木 克洋	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 統括診断部長

表2

厚生労働科学研究費補助金
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

網田全司班 平成25年度 第一回班会議

「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究協力者	切替照雄	国立国際医療センター感染症制御研究部 部長
	前田伸司	結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部結核菌情報科長
	高鳥毛敏雄	関西大学 社会安全学部 教授
	松本 健二	大阪市保健所 感染症対策監
	小向 潤	大阪市保健所 感染症対策課医長
	藤山理世	神戸市中央区保健福祉部 医務担当部長
	中島 俊洋	ジェノメディア株式会社 取締役・CEO
	赤川 清子	北里大学生命科学研究所 客員教授
	螺良 英郎	(財)大阪結核研究会 理事長
	露口 一成	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター 部長

表3

5. 研究組織情報

研究者名	分担する研究項目
岡田全司	研究の統括。 多剤耐性結核の診断・治療の確立、海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学と対策研究。 多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
永井英明	多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
加藤誠也	韓国と中国及び台湾と日本とのネットワークによる結核・多剤耐性結核分子疫学共同研究
小林信之	日本(東京・東日本)における海外から輸入される結核の実態把握および分子疫学的解析。
藤田 明	全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。
服部俊夫	中国及びフィリピンとの研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学的解析及びHIV合併結核研究。

表4

5. 研究組織情報

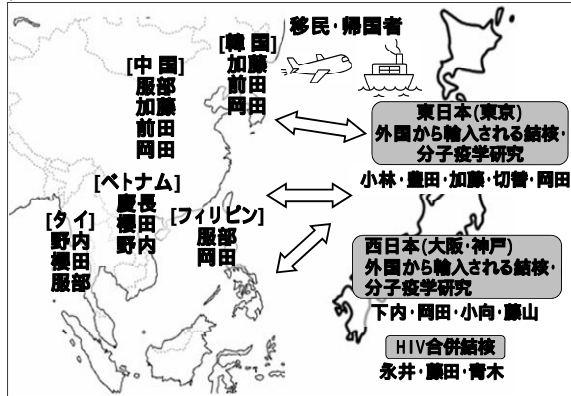
研究者名	分担する研究項目
下内 昭	日本(大阪・神戸・西日本)における海外から輸入される結核の実態把握及び分子疫学的解析。
野内英樹	タイ及びベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析とHIV合併結核研究。
慶長直人	ベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学・宿主要因解析。
櫻田紳策	タイ及びベトナムとのネットワーク活用による多剤耐性結核とHIV合併結核の宿主要因・分子疫学的解析。
竹田 潔	外国から輸入される多剤耐性結核治療の確立。
青木孝弘	HIVによるT細胞免疫不全解析及びHIVに合併する結核研究と対策。
鈴木克洋	国立病院機構呼吸器ネットワークを活用した多剤耐性結核の迅速診断・隔離法開発。

図1

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

目的

日本の外国人結核等の実態把握と分子疫学、HIV合併結核研究とアジア諸国のネットワーク活用による多剤耐性結核制御



期待される効果

1. 結核・多剤耐性結核の日本への流入・蔓延防止
2. 外国人結核・多剤耐性結核の減少・早期発見
3. HIV合併結核の減少
4. 多剤耐性結核 新しい迅速診断・入院法
5. アジア諸国の結核減少
6. 医療費節減
7. 国際貢献

研究方法・日本

1. 海外から輸入される多剤耐性結核(日本の外国人結核)実態調査と分子疫学解析 岡田, 小林, 下内, 豊田, 加藤, 切替, 前田, 小向, 松本
2. 日本・中国・韓国・台湾結核菌分子疫学解析 加藤, 前田
3. アジア諸国の多剤耐性結核・分子疫学研究, HIV合併結核 岡田, 加藤, 服部, 野内, 慶長, 櫻田
4. HIV合併結核の把握 永井, 藤田, 青木
5. 新しい多剤耐性結核迅速診断入院法 鈴木, 露口, 竹田, 岡田
6. 外国人結核の多いアジア諸国の結核対策情報収集(岡田, 服部, 加藤, 野内, 慶長, 櫻田)

研究成果

日本の外国人結核

1. 本邦の外国人結核の実態把握と対策, (1)全国の外国人結核調査票(2012年)にて2121例解析(岡田), (2009~2011年全国保健所・病院 790施設) 年々増加, 中国国籍, フィリピン, 韓国の順, 学生22%と著増, 多剤耐性結核は4.4%と高頻度, 日本人の6.4倍, (2)東京(小林, 豊田):MDR-TB多し, 東京都外国人結核マニュアル作成 (3)大阪(下内):学生が多く35% (50%以上日本語学校生), 学生健診強化の必要, 大阪市外国人結核マニュアル作成 (4)中国から日本移民にS・S MDR-TB,
2. 分子疫学研究(小林, 切替, 岡田) 外国人結核菌株のRFLP解析:クラスターI(中国, 韓国 多)と, IIを形成, 外国人結核菌91株と日本人結核167株の全DNA解読:外国人株は日本人株と異なり, 菌株特異的一塩基多型の数も多く, 外国人株は海外から持ち込まれたことが示された,

アジア諸国の多剤耐性結核

1. タイ:MDR-TB再発例で23%と著増, HIV合併結核493名中活動性結核16%(野内), 再発結核患者では血清granulysin (Gra) 低下(櫻田), TBGL診断有用(服部)
2. 中国東北部:治療歴なしで薬剤耐性結核58%と高率, 多剤耐性結核で治療歴あり60%と高率, (服部)
3. ベトナム:INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で多い(慶長), 潜在性結核はGra値低下発見(櫻田),
4. フィリピン:結核の疫学, 診断(服部)

日本・中国・韓国・台湾分子疫学研究

1. VNTR解析で, 日本, 韓国の結核菌は“祖先型”, 中国は“蔓延型”, 韓国はRD181陽性で日, 中, 韓, 台の結核菌は各々区分可能な発見, (加藤・前田)
2. さらに全23箇所のSNP検出リアルタイムPCR系を確立,
3. 今まで北京型結核菌は, modern型とancient型の2群にしかなかったが, 本SNPシステムで日本株はmodern型は5群, ancient型は4群に細かくグループ分けができた,

HIV合併結核

1. HIV合併結核症例の解析, 国立病院機構:結核20,845例中HIV合併結核0.4%, このうちHIV合併多剤耐性結核3.4%, 粟粒結核や死亡例, HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋(永井) 国立病院機構以外:HIV合併結核121例中多剤耐性0.8%, HIV抗体検査なしの結核医療機関6割(藤田)
2. HIV合併結核129例(国際医療セ)外国人籍24%, 多剤耐性結核2%, HIV合併結核患者におけるQFT-3G診断法は有用(特異度は高い), (青木)

多剤耐性結核に対する迅速診断の開発

rpoB変異を用いて多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築, 6施設に普及, (鈴木・露口)

アジア諸国の結核対策・治療システム

外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集(岡田・加藤・服部・野内・慶長)を中国 Heping, 韓国 Cho, タイ Srisin, フィリピン Dayrit博士等と, すでに確立した結核ネットワークで行った, アジア諸国との結核対策共同ガイドライン作成中,

A. 研究目的 (図1) (表5)

1. 近年、海外から輸入される多剤耐性結核が問題。
2. したがって
 - (1) 海外から輸入される多剤耐性結核 (日本の外国人結核・帰国者の結核) の分子疫学的解析 (表5、図1)
 - (2) 日本・中国・韓国・台湾の結核菌分子疫学研究
 - (3) アジア諸国の多剤耐性結核
 - (4) 多剤耐性結核とHIV合併の把握 (図1)
 - (5) 多剤耐性結核の迅速診断法・迅速治療法の確立 (図1) と多剤耐性結核の治療法 (化学療法等) の確立 (図1)
 - (6) アジア諸国の結核対策研究ネットワークを活用したアジア諸国の結核対策治療システム (図1、図2)

具体的には (図3、4、5、6)

- (1) 観光やビジネス等に伴う人の移動によって結核を含めた感染症がアジア地域内の国々に広まる可能性が考えられる。
欧米諸国では既に反復配列多型 (VNTR) 法を利用した標準型別システムが、フランスパスツール研究所のSupplyらによって報告されている。また、北京型結核菌が他の系統と比べて病原性が高いこと、多剤耐性菌へ変化しやすいことなどが報告されている。一方、東アジアの国々では、欧米で主流となっている遺伝型の結核菌とは異なる北京型結核菌の割合が高く、この株に対する国際標準VNTRシステムでの型別能は低いことがわかっている。そのため、東アジア諸国で共通で利用できる結核菌型別システムの構築を目指して共同研究を開始した。
昨年までの研究で共通に利用できる反復配列多型 (VNTR) 分析システム (10-locus VNTR) を樹立した。また、各国で広まっている結核菌の遺伝型を網羅的に分析し、特徴を明らかにすることで、結核菌の由来や感染国の推定などに利用できると考えられる。このための型別法として、次世代シーケンサーによる結核菌の全ゲノム解析から得られた一塩基多型 (SNP) を

用いた型別法を利用した分析システムの構築を進めた。SNPは結核菌の遺伝系統に応じて発生し、蓄積されていくことからVNTRのような垂種型別ではなく、もっと安定した遺伝系統 (型別情報) を提供するものと期待される。

各国、各地域から結核分子疫学を専門とする研究者を集めて会議を開き本研究について議論を行った。東アジア国々で共通のSNP解析やVNTR分析システムを構築し、型別情報の蓄積と情報交換ができれば、例えば、各国で広がっている多剤耐性菌や病原性の高い株の型別情報を迅速に共有することができる体制をつくることできる。

- (2) わが国における外国人結核の割合は日本人結核とは逆に増加傾向にある。2012年より結核の統計分類が変更になり (外国生まれ、日本生まれ、不明)、2012年の外国生まれの結核患者数は1000人を超えた。外国国籍、外国生まれを合わせて外国人結核患者として扱うと、2012年の外国人患者の新登録結核患者数に占める割合は5.2%であり、若年層、とくに20歳代では37.0%にまで増加した。新規の外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。実際、岡田班の第2次調査では外国人結核の4.4%が多剤耐性であり、日本人結核に比べて高率であることが明らかとなった。また、同調査では都道府県別に見て、最も多くの外国人結核が発症しているのは東京都であった。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置し、東京都各地域の外国人結核患者を扱っている。本年度の研究では、東京における外国人結核の臨床像の経年的推移を明らかにするとともに、薬剤耐性について日本人結核患者と比較検討する。また、外国人結核患者が母国で感染してわが国に入国したのか、わが国で結核を感染したのかを推定することを目的に、外国人由来結核菌の分子疫学調査を実施する。
- (3) フィリピン、中国、日本における結核菌 (MTB) 遺伝子型の同定によりアジア諸国間での結核菌の感染ルートを解析し感染の拡大を阻止する手立てを講ずることを目指した。またバイオマーカーを用いて各国の結核患者の免疫反応の特徴

表5

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症 研究事業(平成25年度)		
海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究		
研究代表者	岡田全司 (独) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長	研究の統括
研究分担者・研究目的		
I 日本における外国人結核の実態把握と分子疫学解析	小林信之 (国際医療研究センター) 東日本(東京) 岡田全司 下内 昭 (結核研究所, 大阪市保健所) 西日本(大阪・神戸)	
II 日本・中国・韓国・台湾との結核分子疫学研究(研究ネットワークを活用した)	加藤誠也 (結核研究所) 中国、韓国、台湾の結核菌分子疫学・日本の結核菌と比較	
III アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析(研究ネットワークを活用した)	服部俊夫 (東北大学) 中国、フィリピンの実態調査と分子疫学 野内秀樹 (結核予防会複十字病院) タイの結核菌分子疫学 慶長直人 (国際医療研究セ) ベトナム宿主要因 櫻田幹策 (国際医療研究セ) タイ・ベトナム	
IV HIV合併結核	永井英明 (国立病院機構東京病院) 国立病院機構ネットワーク活用HIV合併結核 藤田 明 (東京都多摩北部医療セ) 全国病院施設・保健所 青木孝弘 (国際医療研究セ) HIVによる免疫不全と結核	
V 多剤耐性結核に対する迅速診断・新治療剤の開発	鈴木克洋 (近畿中央胸部疾患セ) 多剤耐性結核迅速入院法 竹田 潔 (大阪大学) 新しい結核治療剤開発	
VI アジア諸国の結核対策・治療システム	岡田、加藤、服部、野内、慶長	

表6

研究方法

アジア諸国のネットワークの活用による
多剤耐性結核・HIV合併結核制御

必要性

1. 日本国内への結核流入・蔓延防止。
2. 日本の外国人結核は年々増加。集団感染。
3. 日本のHIV増加。HIV合併多剤耐性結核は難治性。
4. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離重要。世界で50万人。莫大な費用。新治療剤必要。

を特定し適切な結核治療ガイドラインの作成に役に立つと思われる。北京型特異的配列を有するRv0679c抗原の変異・非変異型蛋白、あるいは

は変異領域を含むoverlapping peptideでMTBの北京型と非北京型を宿主反応から検出することを目標にした。

- (4) 外国人結核の特定の結核菌株蔓延示唆。患者が多い新宿区の分子疫学調査が重要。

低蔓延の欧米先進諸国では結核患者の半数以上を外国出身者が占めている。これは国際交流がすすみ、人の行き来や交流のなかで起こってくる事態である。自国の高齢者が結核の半数以上を占めている日本でも、20代の結核患者では外国籍の患者が28.2%を占めており、83.4%が5年以内の発病であるという。高蔓延の母国で感染し、他国でのストレス等の要因で発病という一連の病態は納得しやすい説明である。実際には結核で入院治療する外国人患者は種々の状況で発病、診断され、治療されることは日本人の場合と変わらないが、言葉の問題や服薬支援ではより力を注ぐ必要がある。また結核の2大問題であるHIVと多剤耐性に注目し実態に迫りたい。

- (5) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008年以降に大阪市において登録された全結核患者に占める外国人（外国出生）の割合は、全年齢で見ると3%前後で大きな変化はみられなかったが、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。外国人結核対策に資するため、大阪市において外国出生結核患者の発生動向を調査した。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2013年現在大阪市には34校の日本語学校があり、うち専修学校（健診義務あり）は13校、その他（健診義務なし）は21校であった。2011年4月より、健診義務の対象となっていない者（専修学校以外の学校および専修学校のうち短期コースの者）に対する健診を実施している。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生患者由来結核菌株のVNTR解析をすることにより、国内での伝播状況を考察した。

- (6) 細胞性免疫が著しく低下するAIDS患者では結核の発病リスクはきわめて高い。多剤耐性結核（MDR-TB）を合併した場合、予後は不良である。わが国ではHIV感染者は増加傾向にあり、結核中蔓延国であるわが国ではHIV感染者が結核を発病するリスクは欧米先進国に比べ非常に高いといえる。

国立病院機構病院におけるHIV合併結核について2007年より継続的に調査を行ってきた。その

中でMDR-TBの実態調査を行っている。今年度も継続的実態調査を行った。

- (7) 多剤耐性結核は治療の難しい結核であるが、HIV感染を合併していると予後が悪いことが海外から報告され、院内集団感染事例では死亡率がきわめて高い（死亡率72～98%）。国内では近年、村上・加藤ら、村松ら、千葉らによって3本のHIV合併結核に関する臨床検討が報告されている。それによると、外国人の割合は17～29%であり、結核全体の外国人比率よりも多い。多剤耐性結核菌については、千葉らの報告では、2/129例1.6%（1996～2010年のエイズ治療・研究開発センターにおける症例）また、全国HIV感染合併結核症アンケート調査報告（2003～2006年に診療）は3/105例2.9%で認められた。そこで日本における多剤耐性結核とHIV合併についてその実態を詳細に把握することを本研究の目的として、平成25年度も23年度からの研究を継続した。

- (8) HIV感染者が結核菌に暴露した場合、その発症の確率は1年間に5から10%と推定されており、HIV非感染者が生涯で5から10%の発症率であることと比べると非常に高い。また、HIV感染者の結核による死亡率は、HIV非感染症例の約2倍と高値であり、HIV患者において結核は重要な合併感染症である。結核発症率が有意に高いHIV感染者における結核の実態を把握することで、結核の蔓延の予防につながると考えられる。

本研究の目的は、HIV合併結核患者の患者背景、HIV感染の状態、HIVおよび結核の治療経過を後視的に検討することで、HIV合併結核患者の実態を把握することにある。国立国際医療研究センター エイズ治療・研究開発センターでは、平成8年以後に約130症例の結核合併HIV感染の症例を経験しており、当センターでの症例を調査することで、本邦のHIV合併結核に重要な知見となると考える。

結核の診断に関しては、本邦でもBCGの影響を受けない客観性を有する検査であるインターフェロン遊離試験（Interferon Releasing Assay、以下IGRA）がツベルクリン反応に代わり施行されるようになった。IGRA法にはクオンティフェロン（QFT）とT-spot TBの2種類がある。第3世代QFTであるクオンティフェ

ロンTBゴールド（以下QFT-3G）が、本邦でも平成22年4月1日より保険診療で行なえるようになった。本邦は結核中蔓延国であり、結核診断においてIGRAに関する報告は多数あるが、HIV感染合併結核におけるQFT-3Gの報告は限られている。

QFT-3Gは、非HIV感染者におけるQFT-3Gの感度が90%以上であるのに対し、HIV感染者では、QFT-3Gの感度が80%前後とする報告もある。以上より、HIV感染者においてQFTが陽性、判定保留、判定不可となった患者の背景を検討することで、HIV感染者におけるQFT-3Gの検査特性を検討できると考えられる。

次世代IGRAであるQFT-3GのHIV感染者における検査特性の解明と本邦独自の新たなHIV感染者での診断法としての検討を行なうことを目標とした。

平成24年11月より同じIGRAの1つであるT-スポット TBが本邦でも保険収載され利用可能となった。QFT-3Gと比較しT-スポット Tbは感度・特異度ともに高いとされているが、本邦でHIV感染者における両検査の比較検討は施行されていない。

そこで、平成25年度は、当センターの初診HIV感染者及び抗酸菌症と確定した当センターの通院中のHIV感染者を対象とし、QFT-3GとT-スポット TBを施行することで、両検査の感度・特異度などの比較検討を行う。

HIV感染者における2種類のIGRAの診断法としての有用性を明らかとすることを目標とする。HIV合併結核に関する診療ガイドライン策定の際の基礎データとなると考える。

- (9) 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界（特にアジア地域）で大問題。有効な治療法なし。
- (10) 多剤耐性結核菌に対する宿主側の防御機構と菌側の要因との両面からの解明が切望。
- (11) 海外から輸入される多剤耐性結核・HIV 合併結核の実態把握と分子疫学的解析で対策・成果。
- (12) アジア諸国（特に韓国、中国、台湾）との研究ネットワークを活用し、海外から流入する結核菌株を迅速に把握するシステム（分子疫学解析）構築。結核菌型別データベース構築。
- (13) 日本における外国人結核の分子疫学解析による特定菌株蔓延の解析と治療実態把握。国際医

療研・国立病院機構・保健所・結研の全国研究。外国人同士や日本人への感染伝播分析。

- (14) 多剤耐性結核の診断の遅れは、患者本人の治療失敗に加えて周囲への感染拡大につながるため、迅速な感受性検査はきわめて重要である。ジェノスカラーRif-TB は、喀痰中の結核菌に存在する RFP 耐性遺伝子である rpoB 遺伝子領域の変異をラインプロブアッセイで検出することによる RFP 耐性迅速診断法であり、24 時間以内に結果を得ることができる。RFP 耐性結核の大部分は多剤耐性結核であるため、本法は多剤耐性結核のスクリーニング法としても期待できる。我々は本法の従来法との相関、有用性につき検討した。
- (15) 多剤耐性結核、難治性結核患者の前向きコホートを含めた人と菌の検体バンクを活用し、日本への伝播も検討した疫学研究を目的とした。岡田班本体「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究(H23-新興一般-002)」が掲げる「海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析、HIV 合併の把握、多剤耐性結核の診断・治療に対応し、タイ NIH という日本が建設してアジアの中心研究機関に育てるネットワークを活用する。前岡田班時代より進めている多剤耐性結核を含む難治性結核(再発、治療失敗、慢性排菌例)患者の正常治癒例と比較した検体バンクとコホートを、日本には少ない HIV 感染毎の情報も持ちながら補強し、前記の研究目的の為の疫学研究を遂行した。
- (16) わが国に居住している外国人のうち、アジア系の集団は 70%以上を占めることが知られている。このためアジア人の結核対策は外国人結核対策の主要部分を占める。さらに日本人の結核発症者の中で多剤耐性結核の占める割合は低い。アジアを含む発展途上国では、治療歴のない患者でも数%以上の頻度で多剤耐性結核が認められるのが通例であり、今後、外国人結核対策がわが国の多剤耐性結核対策の重要な部分を占めるようになるのではないかと懸念されている。

このような背景のもと、アジア人における発症増加が危惧される多剤耐性結核の発症素因を明らかにすることは、わが国を含むアジア地域全体の結核対策に貢献するものと期待される。

ホーチミン市のファムゴックタック病院は、ベトナム南部の結核拠点病院である。多剤耐性結核についての共同研究として多剤耐性結核の発生に関わる宿主側の要因を検討すべく、断面研究を実施した。

DUSP14 は二重特異性タンパク脱リン酸化酵素 (DUSP)ファミリーに属し、リン酸化により活性化となったMAPキナーゼ(MAPK)のリン酸化セリン/スレオニンとリン酸化チロシンをともに脱リン酸化し、MAPK を不活性化状態に戻す、ネガティブ・フィードバックの働きを有しており、サイトカインの発現量を調節するなど、重要な免疫炎症制御の役割を担っていると考えられている。Barreiro らは実際に *in vitro* で *DUSP14* の機能的 SNP である rs712039 と主要な免疫系サイトカインである TNF- α および IFN- γ の産生量が有意に関連している(トランスに働いている)ことを報告している。我々は、regulatory SNP により規定される *DUSP14* の発現量の違いが結核免疫の個体差、さらに多剤耐性結核の病態に関与している可能性を考え、多剤耐性結核患者の血液中で、SNP rs712039、あるいは同価の SNP がシスに働き、*DUSP14* の遺伝子発現量を調節していること、また同 SNP がトランスに働き、免疫関連分子や炎症性サイトカイン の発現量を制御しているか否かを検討した。

- (17) 活性化マクロファージ (M-M)における活性化型ビタミン D₃ 関連遺伝子発現について確認を行うとともに、活性化型ビタミン D₃ の存在とは無関係に H37Rv 殺菌後に培養上清に現れる dermicidin について検討を行う。活性化マクロファージによる結核菌殺菌のエフェクター分子が同定され、そのような分子の産生に関わる因子が同定されることによって、結核菌感染初期の封じ込めのメカニズムが明らかとなり、結核の診断及び治療に対して資するところがある。
- (18) 自然免疫系は、病原体の宿主内への侵入を最初に察知し、種々の炎症・免疫応答を誘導する重要な免疫系である。最近、Toll-like receptor (TLR)ファミリーの機能解析により、自然免疫系の活性化機構が明らかになり、TLR を介した自然免疫系の活性化の生体防御における重要性が明らかになった。結核菌に対する生体防御においても、自然免疫系が結核菌の認識が重要な役割を果たす可能性が考えられる。これまでに、マウスを用いた我々の解析から、リポカリン2やSLPIなどの分子群が、結核感染における自然免疫応答で重要な役割を担っていることが明らかになっている。本研究では、自然免疫系による結核感染防御機構を明らかにし、多剤耐性結核菌に対する、自然免疫系の活性化を利用した新規治療ワクチンの開発への基盤を提供することを目的とする。

■ FIGURE 1.1
Estimated number of new TB cases, by country, 2007

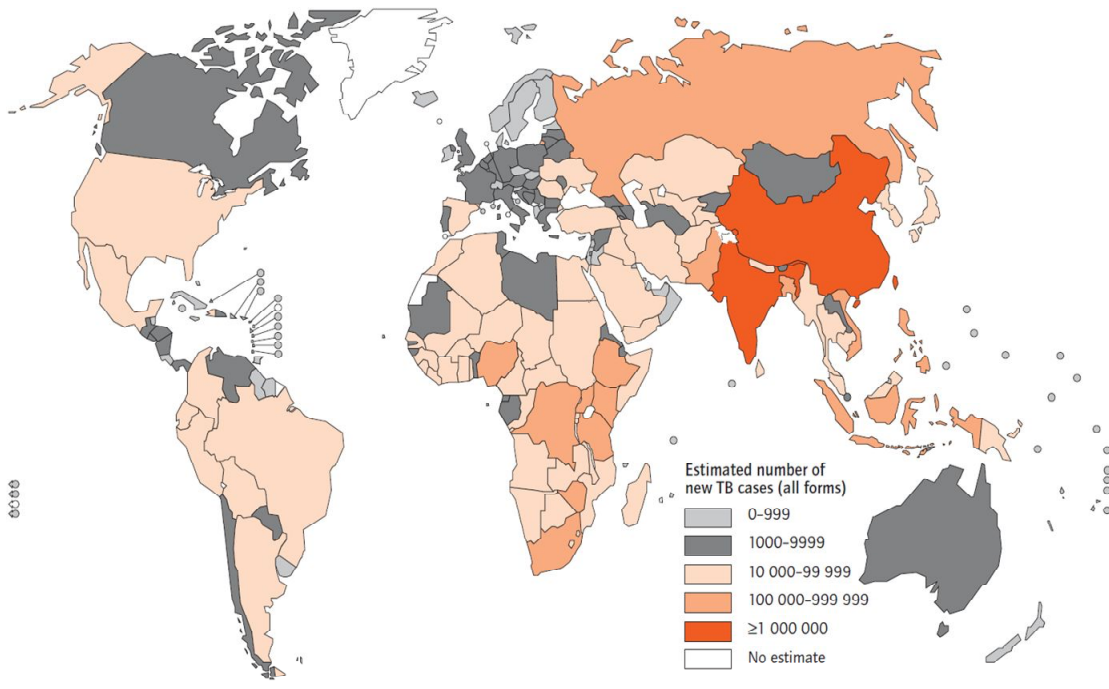


図2

[] 海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析

アジア諸国の結核菌遺伝子解析による感染伝播菌解明

【平成23～25年度計画】

中国株、韓国株、日本株、台湾株
分離可能な発見

結核菌	中国	韓国	日本	台湾
北京型				
蔓延型				
祖先型				
RD181(+)				
RD181(-)				
非北京型				

(Kato, J. Med Micro. 2010)

- 1.左表の如く日本・中国・韓国・台湾の結核菌感染では、**出身国(母国)**を遺伝子解析同定しうる発見をした。
- 2.**アジア諸国20カ国**(ベトナム、フィリピン、タイ、インド等)にこの遺伝子解析を応用する。
- 3.多くのアジア諸国の結核菌を区分する方法を開発する。
感染伝播結核菌の母国からの入国等重点対策がたてられる。

図3

アジア各国で使えるSNPs分析法とVNTRを 組み合わせた感染菌型の解明

Line Probeアッセイの簡便鑑別キットを作製

日本への結核菌輸入・蔓延防止に重要

感染伝播国での結核対策
 入国時チェック
 入国後フォロー

4. 極めて識別能が高い20個のSNPs+VNTR(10ローカス)

合計20 SNPs	7-SNPs	台湾が提案の非北京型結核菌の分類
	3-SNPs	上海が提案の蔓延型北京型
	10-SNPs	日本が提案の祖先型北京型
結核菌の系統分類		
		VNTR(10ローカス) 亜分類

5. アジア各国で使えるSNPs+VNTRのLine Probeアッセイの簡便鑑別キットを作製

図4

[] 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握と対策

本邦で最もHIV合併結核の診療・研究を行っている

永井 Kekkaku 2009
 藤田 Clin Dev Immunol 2011

- | | |
|--------------|------------------|
| 1. 永井英明 | 国立病院機構144施設 |
| 2. 藤田 明 | エイズ拠点病院・保健所との連携 |
| 3. 青木孝弘(岡慎一) | HIVによるT細胞免疫不全と結核 |

AIDS患者は健常人の170倍のリスク。本邦のHIV増加。

1. 本邦でのHIV合併結核の実態把握(全国に調査票等)。
2. HIV陽性者のQFT早期診断の確立と潜在性結核患者の早期発見。
3. 結核患者のHIVスクリーニング。
4. HIV合併結核マニュアル作成。

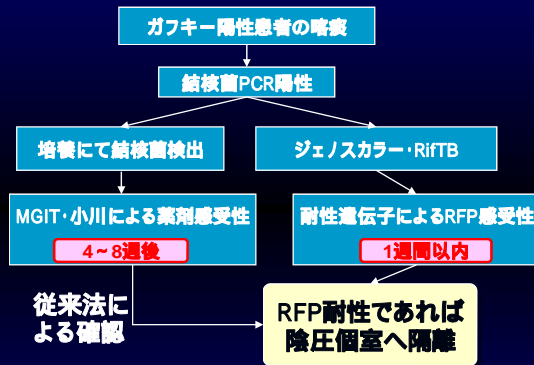
[] アジアの多剤耐性結核とHIV合併結核の把握と分子疫学解析

1. 中国・フィリピンにおける多剤耐性結核とHIV合併結核。SNPsとVNTR法(加藤)でも解析。中国ハルビンでスーパースプレッダー多剤耐性結核菌発見したことより中国の広い地域で解析(服部)。
2. タイでのHIV合併結核の実態把握と分子疫学解析(野内)。
3. ベトナムでのHIV合併結核の分子疫学と宿主要因解析(慶長)。
4. タイ及びベトナムのHIV合併結核のバイオマーカーの開発(櫻田)。

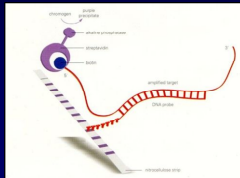
図5

[] 多剤耐性結核迅速診断・迅速入院(隔離)法

迅速入院法確立



- 1.初めての発見。現在6病院。
- 2.通常の方法では診断に30日以上。本法では5日以内。
多剤耐性結核の蔓延・感染をブロックできる。
- 3.これを本邦270の結核診療施設に普及。
- 4.この診断法の簡易化、自動化。



診断法の簡易化・自動化

Line Probe assay

(鈴木、露口、岡田 Kekkaku 2008, 2009)

図6

B. 研究方法 (図1) (表6)

1. 海外から輸入される結核菌・多剤耐性結核菌の分子疫学研究

(1) リアルタイムPCRを利用したSNP分析システムの構築

次世代シーケンサーを使った結核菌株の分析から明らかになったSNP部位を遺伝系統毎に選択して、結核菌を遺伝系統的に型別するSNP分析システムを作成した(図4)。SNP部位の塩基は、リアルタイムPCRを利用した分析系で検出した。本システムを使って各国で分離された結核菌(200株以上)の解析を行った。

日中韓台分子疫学研究会議

平成26年1月14-15日、東京都清瀬市、結核研究所で分子疫学担当者会議を開催した。SNP解析については、結核研究所で樹立した23か所の全系統の結核菌を網羅的に分析できるシステムを採用した。本研究所で各SNP部位の塩基検出のためのリアルタイムPCR用のプライマーやプローブ及び変異の入った陽性コントロールを準備して参加施設に送付した。

(2) 日本の外国人結核・帰国者結核の分子疫学解析と対策。

(a) 日本の外国人結核患者を最もよく診療・分子疫学解析研究する小林・切替・豊田(東京・東日本)、下内・和田(大阪・西日本)等により分子疫学(VNTR等)・対策構築。

(b) 国立病院機構(岡田)、国際医療研セ、保健所、結研で全国レベルで行う。全国の外国人結核の菌株をVNTRで解析し、特定の菌株蔓延があるか解明する。

当班で新たに外国人結核調査票を作成した。日本全国:2012年全国保健所528、結核病床を有する病院262、合計790施設に2009年~2011年の調査票(外国人結核)を送り、90%の回答。2121例(重複なし)を解析した(岡田)。

国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2012年12月の間に診療した外国人結核患者を対象として、性別、年齢、国

籍、社会背景、基礎疾患、合併症、塗抹培養、薬剤耐性、転帰などの臨床的特徴について調査した。そして、6年間を前半(2007-2009年)と後半(2010-2012年)に分けて、それぞれの項目を比較検討した。結核菌の薬剤感受性に関しては、同期間における日本人結核菌株の感受性結果と比較した。東京に在住している日本人および外国人由来結核菌の網羅的分子疫学解析を目的に、外国人結核患者由来91株、および性別、年齢をマッチさせた日本人結核患者168名から分離された結核菌のゲノムDNAを抽出し、MiSeq(Illumina Inc.)を用いて全ゲノム配列を決定した。Illuminaの配列の解析にはCLC genomics workbench ver.6.5(CLC bio)を用いた。*in silico* genotypingは、Gagneux S.らの定義を用いて、Indo-Oceanic(Lineage 1)、East Asian(Lineage 2 or Beijing)、East African-Indian(Lineage 3)、Euro-American(Lineage 4)、West African I(Lineage 5)およびWest African II(Lineage 6)の系統分類を行った(Gagneux S. et al., 2006)。北京型結核菌は、NTF領域へのIS6110の挿入および*mutT2*遺伝子のGly58Argの変異の有無によってmodern型とancestral型に分類した。系統樹は、PhyML3.0を用いて最尤法で作製した。

(3) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008年~2012年に大阪市で新規登録された外国人(外国出生)結核患者の発生動向を調査した。性別・年齢・出身国・入国から結核登録までの期間・職業について分析した。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2013年に実施した日本語学校16校に所属する外国出生者への結核健診について、受診者の年齢・性別・出身国・健診結果・精密検査結果を分析した。最終的に活動性結核と診断された者のうち、大阪市において登録された者については、来日から健診受

診までの期間・症状・結核既往・病型・菌情報などについて分析した。

出生結核患者由来菌株のVNTR解析

2010年～2013年に登録された外国出生結核患者は141名であり、うち培養陽性は74名(52.5%)であった。そのうちVNTR解析を実施した者は54名(73.0%)であった。対照として、2010年～2013年に登録された40歳未満の日本出生培養陽性結核患者338名の中でJATA12-VNTRを実施した216名(63.9%)と比較した。VNTR解析は、JATA12-VNTRを行い、完全一致した場合にはHV4領域を含む12追加領域を解析した。

2. 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握：

(1) 永井、藤田、青木により実態把握。臨床的特徴・T細胞数や活性・治療・結核症状・HIV進行度等について調査・解析。

(a) 国立病院機構(NHO)病院143施設に対して調査票を送り、2012年1月1日～12月31日の間のHIV感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。臨床データは、年齢、性別、国籍、結核の病態、治療、免疫再構築症候群の合併、転帰等である。その中から多剤耐性結核例の抽出を試みた。

(b) 平成25年度に、全国513の保健所、全国247の結核診療医療機関(国立病院機構を除く)、全国231のHIV診療拠点病院(国立病院機構を除く、国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターを含む)を対象に、HIV合併結核の症例の有無を尋ねる一次調査を実施した。ただし、調査機関数は統廃合・追加等のため過年度の数とは必ずしも一致しない。一次調査の結果をもとに、症例を有した医療機関に対して匿名化症例調査票による二次調査を実施した(保健所に対しては二次調査を行わなかった)。一次調査、二次調査ともに各施設の担当者に記入を依頼し、郵送法により実施した。

一次調査の内容は以下である。

結核病床を有する(有した)医療機関には、年次ごとの結核入院患者のうちHIV感染症合併例数・HIV感染症合併例のうち多剤

耐性結核例数、HIV拠点病院(結核病床を有さない)には、HIV感染症合併の結核例数・HIV感染症合併結核例のうち多剤耐性結核例数、保健所には、結核新登録患者数(確定例)・核患者のうちHIV感染症合併例数・HIV感染症合併例のうち多剤耐性結核例数である。

関連調査として、25年度の単年度調査では、結核医療機関を対象に「結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率(概数)を教えてください。」と質問し、20%区切りの選択肢による回答を求めた。

HIV感染合併結核症例を有すると返答があった医療機関に対して、症例に関する匿名化二次調査を行った。使用した症例調査票は国立病院機構病院の症例調査票と共通のフォーマットとし、主として結核およびHIVに関する臨床的データに関して記載を依頼した。

(c) 国立国際医療研究センターにおけるHIV合併結核患者について：

センターにおけるHIV合併結核患者について、その臨床像(喀痰塗抹検査、抗結核療法の有害事象、免疫再構築症候群など)を診療録や画像などより後視的に検討した。対象は、平成8年1月から平成22年8月末までの抗結核療法を導入された129例のHIV合併結核患者とした。

免疫再構築症候群を以下の通り定義する。

抗HIV療法を導入前に結核と診断し、抗結核療法を開始し有効であった症例の中で、ART開始後3ヶ月以内に、結核の他覚的所見の悪化(浸潤影悪化など)、または結核の臨床症状の悪化(発熱、咳嗽など)を認めたとする。なお、結核治療失敗例は除外する。

平成23年4月から平成24年3月までに当センターを受診した新規HIV患者のうち抗HIV療法を導入前で、書面による研究参加の同意が得られた患者について、QFT-3Gを施行した。

QFT-3Gが陽性となった患者では、通常の保険診療の範囲内で精査を施行し、結核症の有無の診断を進める。結核症の存在が示

唆された場合は、潜在性、活動性を問わず、通常の保険診療の範囲内で適切な治療を行う。

QFT-3Gの結果が判定保留または判定不可であった患者は、患者の受診に併せてQFT-3Gを施行し検査結果を経過観察することで、QFT-3Gの結果に影響を与える因子について検討する。

QFT-3Gの結果が陰性であった患者では、QFT-3G検査時より1年間結核発症の有無について経過観察を施行し、結核発症が疑われた場合は、結核症の精査とQFT-3Gを施行する。

平成25年10月から平成26年2月までに当センターを受診した新規HIV患者のうち抗HIV療法を導入前で、書面による研究参加の同意が得られた患者について、QFT-3G、T-スポットTBを施行した。

- (2) 中国・フィリピンは服部、タイは野内、ベトナムは櫻田、慶長。HIV合併結核のバイオマーカー（Gra等）解析。
 - (3) 永井は国立病院機構144病院にHIV合併結核の調査アンケート。
 - (4) 藤田は全国エイズ拠点病院、結核診療病院（国立病院機構を除く）、保健所に調査。
 - (5) 症例の有無を尋ねる1次調査と症例調査票による2次調査。
3. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の確立。
- (1) 全国国立病院機構及び全国結核診療施設に普及。
 - (2) 外国人結核QFT診断。
日本語学校・外国人雇用事業所で。
 - (3) 結核を疑われて当院を受診した患者で、喀痰検査でアンプリコマイコバクテリウムによるPCR検査を行って結核菌群陽性と判定された331例を対象とした。対象患者の喀痰を用いてジェノスカラーRif-TBを行いRFP感受性の有無を判定した。同時に、喀痰検体から培養された結核菌に対して通常のMGIT及びウエルパックによる小川比率法を用いた薬剤感受性検査を行って、結果を比較検討した。
4. 多剤耐性結核の新治療法の確立。（鈴木・岡田・竹田）
- (1) 細胞内DNAセンサーとして同定された

Absent in Melanoma 2(AIM2)の結核感染における役割を、遺伝子欠損マウスを定法により作製し、このマウスに結核菌を経気道的に感染させ、野生型マウスと感受性を比較する。

5. アジアの結核研究ネットワークを活用した、多剤耐性結核の分子疫学。中国（服部・岡田）、フィリピン（服部・岡田）、タイ（野内・櫻田）、ベトナム（慶長・櫻田）で分子疫学研究、S・S多剤耐性結核菌・XDR-TB解析。宿主要因（結核免疫・薬剤代謝）解析。

- (1) 中国・フィリピンでの多剤耐性結核菌の解析：
フィリピン・マニラのサンラザロ病院（50人の結核患者と30人の正常人）、上海公衆衛生臨床センター、復旦大学と金山病院（45人の肺結核患者、26人の肺外結核患者、16人のエイズ/結核患者と39人の正常人）、複十字病院、東北大学病院（35人結核患者、6人潜在性結核、15正常人）の検体を用いてRv0679c抗体と30種以上のバイオマーカーを測定した。フィリピンの患者の喀痰を用いて結核菌をLAMP法で確認し、spoligotyping法で遺伝子型を同定した。
- (2) 結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治性の結核患者（再発例、治療失敗例、慢性排菌例等）の要因に関して研究を継続している。

難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を前回の岡田班より継続している。の群に関しては、菌側のタイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。結核治療に反応が良く再発をしなかった群、結核に罹患していない正常人のコントロール群を設定し、比較の対象としている。ケース・コントロール研究の形態にて、との比較により結核症の難治に関する種々の要因検討、と結核症群(1-2)の比較により結核自体の発症に関連する様々な疫学的因子の検討を進めている。日本においては、公益財団法人(公財)結核予防会・複十字病院臨床検査部にて、タイ国においては、結核予防会・結核研究所とタ

イ保健省の共同プロジェクトが設立母体となり、現在はタイNIH等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドに参画して、検体バンクと臨床データ管理を実施している。

複十字病院は厚生労働省より2011年5月に独立行政法人(独)国立病院機構・近畿中央胸部疾患センターと共に日本で2カ所の結核医療の「高度専門施設」に指定されて先駆的役割を期待されている。抗結核薬開発と共に抗酸菌診断法の研究開発の参加依頼が来る。複十字病院は数多く多剤耐性結核症例が紹介されるので、タイでは多剤耐性結核を単独で検討できる。

- (3) ベトナム南部のホーチミン市にあるファムゴックタック病院は、ベトナム国内南北2カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として研究を実施している。エントリー基準は、薬剤感受性試験で多剤耐性結核(INH, RFP耐性)と診断された16歳以上70歳までの患者で、18か月の治療観察期間を完遂できる見通しがあり、書面同意を得たものとし、HIV陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者58名から血液サンプルを収集し、EDTA添加血より血漿(血中タンパク濃度測定用)および血球(ゲノムDNA抽出用)を得た。またRNA安定化剤を付加して凍結した全血よりtotal RNAを抽出した。

多剤耐性結核患者58名のゲノムDNAが

らPCRにて*DUSP14*遺伝子のプロモーター領域、エクソン領域を増幅し、ダイレクトシーケンスにより遺伝子配列を決定した。見いだされた遺伝的多型間の連鎖不平衡構造解析を行った。

- (4) 健常者の末梢血から単球を分離し、M-CSFおよびGM-CSF存在下にそれぞれ分化したマクロファージを得る。濃度を振った25(OH)D₃または同時にIFN- γ (100ng/ml)を培養上清に加えてBCG(MOI=3-5)を感染させ、0、3、6、12と24時間後に全RNAを抽出する。Real-time PCRにてCYP27B1、CYP24、IL-15、vitamin D receptor、cathelicidinの遺伝子発現を検出する。

健常者の末梢血から単球を分離し、M-CSF存在下に分化した活性型マクロファージを得る。MOI=30でH37Rvをマクロファージに感染させ、3日後の培養上清を濾過滅菌し、Differential Solubilization法による血漿低分子抽出を行い、ペプチドーム解析を実施した。解析結果から、抗菌活性の高い分画に含まれていたdermidicinに着目した。

実験に使用したヒト血液は分担研究者自身の自己血である。患者材料は用いていない。従って、本研究においてはとくに倫理上の問題はないと考えられる。

6. 細胞外マトリックスを構成するヒアルロン酸の肺における蓄積を結核菌感染後に解析した。ヒアルロン酸合成酵素hyaluronic acid synthase 1 (HAS1)、HAS3の機能を解析するため、遺伝子欠損マウスを作製し、結核感染に対する感受性を解析した。

C. 研究結果

日本の外国人結核（岡田）

日本における外国人結核

当班であらたに外国人結核調査票(2012)を作成し、日本全国保健所と結核診療施設の合計790施設に送付し、多数の714施設(90%)より回答を得た(表7)。この2121症例を解析した。

20歳台(48%)が最も多く、次いで30歳台であった(表8)。男性も女性も同じ傾向であった。女性の方がやや多くを占めた(55%)。

国籍では、中国が最も多く、次いでフィリピン、韓国・北朝鮮、インドネシア、ネパールの順であった(図7)インドネシア、ネパールが増加した。入国1~3年の発症が多く(表9)、外国(母国)での結核感染が示唆された。

東京都の外国人結核が最も多く、次いで愛知県、神奈川県であった(表10)。大阪府4位、千葉県5位と千葉県が増加した。愛知県ではブラジル国籍の外国人が多い傾向を示した。

学生(22.4%)が著増したのが特徴であった(表11)。高校生0.8%、大学生9.4%、専門学校生2.4%と日本語学校生9.8%と外国人結核の学生の合計22.4%であった。2006年~2008年外国人結核調査では外国人結核の学生の合計14.5%であり、これに比較して1.5倍以上増加した。

3年前の調査では、定期健診や学校健診による発見は少なかったが、大阪市保健所等の積極的な健診で日本語学校健診が増加した(表12)。

細菌塗沫陽性が35.0%であり、培養陽性が42.4%であった(表13)。

肺結核が77.7%であり、肺外結核として胸

膜炎、リンパ節結核が報告された(表14)。合併症としては糖尿病合併結核が2.9%、HIV合併結核が1.4%であった(表15)。

日本における外国人結核の結核菌の薬剤耐性について解析した(表16)。多剤耐性結核(MDR-TB)は4.4%と、明らかに日本人結核(0.7%)より高い頻度を示した(6.4倍)(表16)。また、外国人結核のINH単独耐性(12.0%)は日本人結核のINH単独耐性(3.8%)より高く、RFP単独耐性(5.4%)は日本人結核のRFP単独耐性結核(1.2%)より高い頻度を示した(表16)。

転帰としては治療途中の帰国が12.3%も存在し、大きな問題点であった(表17)。具体的な問題点として、

言語の問題が大きく、通訳対策の重要性が示された(表18)。

翻訳パンフレットは外国人結核の多い韓国語、ブラジル人のポルトガル語、フィリピン人のタガログ語は少なく問題点であった(表19)。

治療上困難であった問題点を表20に示した。言葉の問題のみでなく、生活習慣の違いや宗教上の食事の問題が指摘された。

2009年、2010年、2011年の日本における外国人結核の推移と傾向

外国人結核患者数は年々増加。中国、フィリピン出身者が年々増加傾向。東京都、愛知県で増加。愛知県企業への移民増加示唆。2009年~2011年の日本における外国人結核調査票集計結果と、2006年~2008年の日本における外国人結核調査票集計結果を比較解析した。(表21、22、23、24、25、26、27)(岡田)

表7 対象者 : 外国人結核(外国生まれ・外国国籍)
調査施設

	送付	回答
保健所	528施設	503施設
国立病院機構	52	46
結核病床を有する病院	210	165
計	790	714 (90%)

2121例

表8 性別・年齢

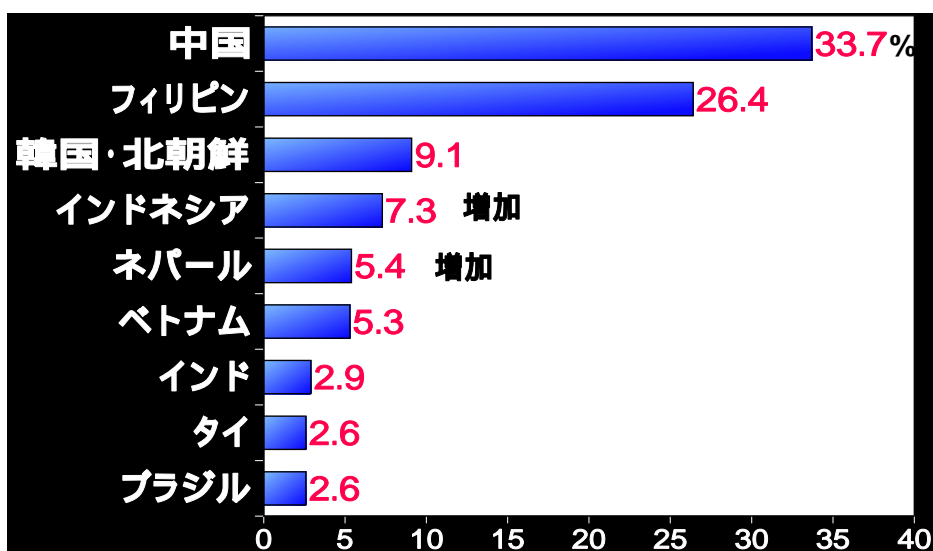
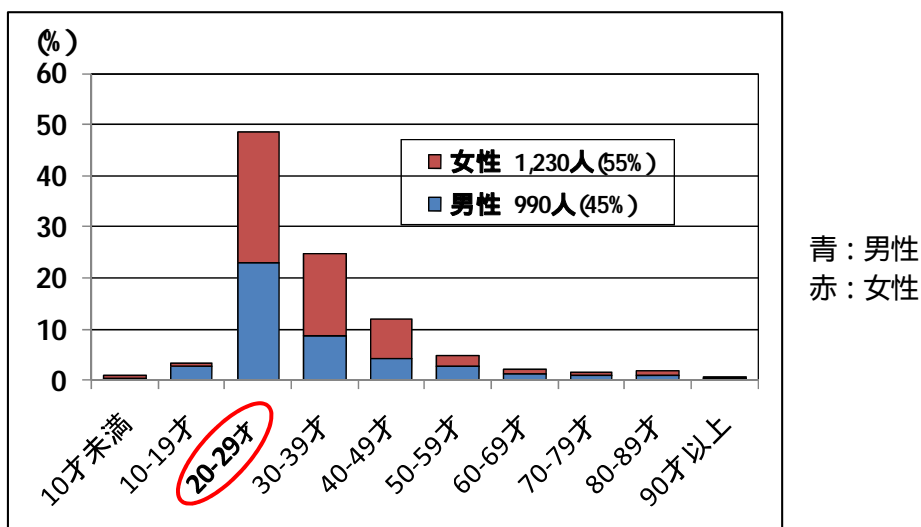


図7 国籍

表9 来日年数

月・年数	人数	累計
~6ヶ月	264	12.4%
6ヶ月~12ヶ月	232	10.9
1年~3年	524	24.7
3年~5年	216	10.2
6年~9年	289	13.6
10年~	346	16.3
不明	201	9.5
無回答	49	2.3

表12 発見方法

医療機関受診	61.8 %
定期健診(学生)	9.2
定期健診(学生)を受けたことがある	0.0
定期健診(労働者)	12.7
定期健診(労働者)を受けたことがある	0.4
個別健康診断	2.6
接触者検診(家族)	2.9
接触者検診(集団)	5.7
日本語学校健診	4.2
外国人を対象とした健診	0.4

表10 都道府県

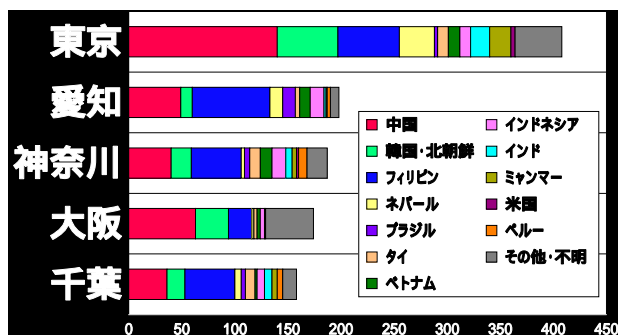


表13 菌情報

塗抹陽性	35.0%
塗抹陰性	50.3
培養陽性	42.4
培養陰性	28.2
PCR陽性	37.2
未実施	6.7

表14 結核診断名

肺結核	塗抹陽性	77.7%
肺外結核	胸膜炎	8.5
	リンパ節	11.5
	粟粒	1.5
	骨関節	1.0
	中枢神経	0.3
	その他	6.3

表11 職業

接客業	9.5 %	22.4%
学生(高校)	0.8	
学生(大学)	9.4	
学生(専門学校)	2.4	
学生(日本語学校)	9.8	
その他常勤者	25.9	
その他臨時雇・日雇	14.4	
主婦	11.2	
無職	14.7	
不明	1.9	

表15 基礎疾患(合併症)

なし	77.3%
糖尿病	2.9
空洞の有無**	10.0
HIV	1.4
胃切除後	0.2
慢性肝疾患(肝炎・肝硬変)	0.5
C型肝炎ウイルス陽性	0.3
HBSキャリアー	0.4
膠原病	0.6
慢性呼吸器疾患(塵肺、COPD、喘息など)	0.7
その他	4.5

表16 薬剤耐性

日本人多剤耐性結核 0.7%
 外国人結核の多剤耐性結核は
 日本人多剤耐性結核の **6.4倍**

	外国人結核 (2009~2011)	日本人結核 (療研2007)	外国人結核 (2006~2008)
多剤耐性	4.4 %	0.7 %	3.8 %
INH耐性	12.0	3.8	
RFP耐性	5.4	1.2	
EB耐性	3.9	1.4	

表17 転帰

治療完了	73.8 %
継続中	5.1
帰国	12.3
治療中断・失敗	2.1
死亡	1.0

表18 言語障壁への対応
 通訳の有無
 有835 (41.6%)
 無1,170 (58.3%)

行政サービス	14.5 %
ボランティア	4.4
友人・知人	19.2
職場・学校など	45.7
その他	20.2

表19 翻訳パンフレット等の有無
 翻訳パンフレット等の利用の有無
 有 701 (41.1%) 無 1004 (58.9%)

英語	25.5 %
中国語	35.7 %
タガログ語(フィリピン)	7.1 %
韓国語	4.1 %
ポルトガル語(ブラジル)	0.4 %
インドネシア語	0.9 %
ネパール語	1.3 %
ベトナム語	1.3 %
ヒンズー語	0.7 %
その他	19.5 %

表20

- 医療上困難であった問題点と対応
1. 言葉の問題
 2. 生活習慣のちがい
 3. 食事の問題(宗教上)
 4. 不法滞在
 5. 経済的な問題

表 2 1

年度別登録患者数

2009年	528 人
2010年	697 人
2011年	725 人

表 2 2

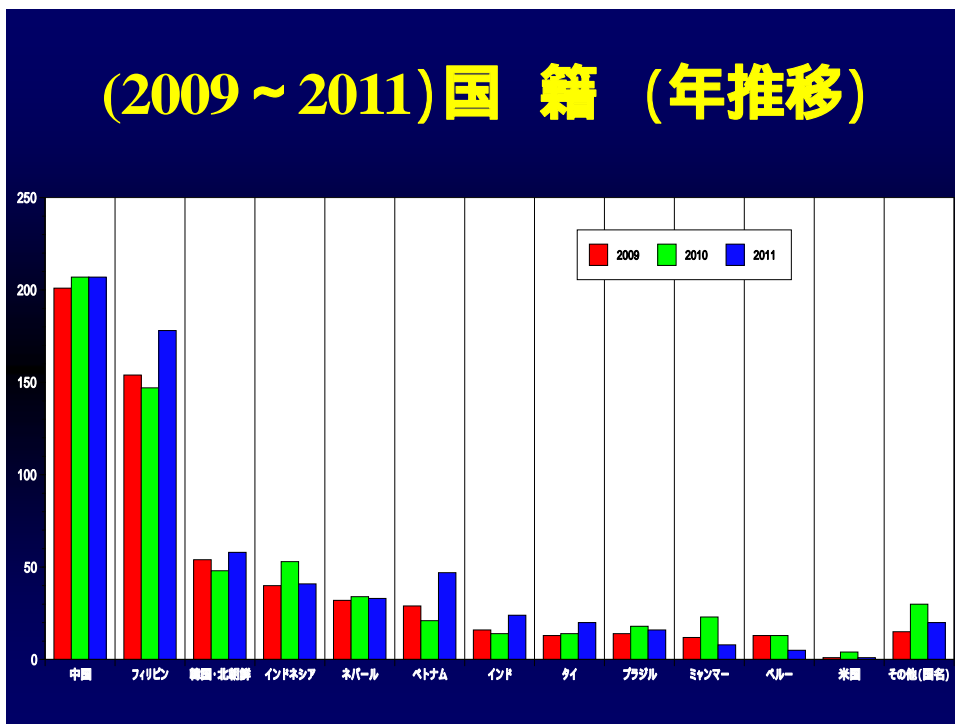


表 2 3

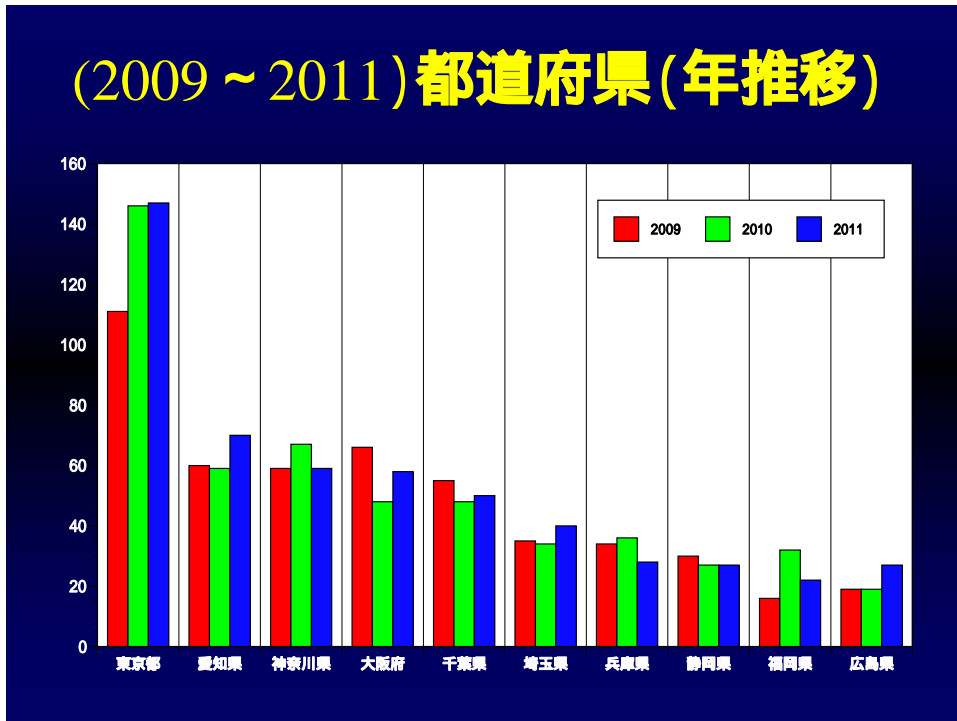


表 2 4

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

(1) 国籍

- (a) 1位 中国、2位 フィリピン、3位 韓国・北朝鮮は同じ。
- (b) インドネシア(5.4% → 7.3%と増加)4位に(5位から)。
- (c) ネパール5.4%に増加。5位に(9位から)。
- (d) ブラジル(5.6% → 2.6%に減少)。
- (e) 中国、フィリピンの比率各々増加。

表 2 5

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

- (2) 性別
 - (a) 今回(2009～2011年)20才台48%、30才台25%、40才台12%、
今回と前回はほぼ同じ。
 - (b) 今回(2009～2011年)女性55%、男性45%と前回とほぼ同じ。
- (3) 都道府県
 - (a) 今回(2009～2011年)
1位東京、2位愛知、3位神奈川、4位大阪、5位千葉
前回(2006～2008年)
1位東京、2位神奈川、3位愛知、4位大阪、5位埼玉
 - (b) 愛知県、千葉県、上位に。
 - (c) 東京(中国国籍↑)(ネパール国籍↑)
 - (d) 愛知(フィリピン国籍↑、ネパール国籍↑)

表 2 6

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

- (4) 来日年数
来日 1～3年以内 25.3% (2009～2011年)で
(2006～2008年)とほぼ同じ
- (5) 職業
 - (a) 学生 22.4% (2009～2011年)と増加。
(2006～2008年)は学生 14.5%
 - (b) 常勤者 (前回29.1%から25.9%に)
- (6) 多剤耐性結核
 - (a) MDR-TB 4.4% (前回 3.8%)
 - (b) INH耐性 12.0% (前回10.0%)、RFP耐性5.4%(前回3.7%)

表 2 7

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

(7) 基礎疾患

	2009～2011年	2006～2008年
糖尿病	2.9%	3.5%
HIV	1.4%	1.3%

(8) 通訳の有無

	2009～2011年	2006～2008年
行政サービス	14.5%	8.2%

(9) 翻訳パンフレット等の有無

(a)パンフレット有が少し増加

2009～2011年 41.1%

2006～2008年 38.7%

(b)タガログ語(フィリピン)

韓国語

ポルトガル語(ブラジル)

2009～2011年は2006～2008年と同じく少ない

. 分子疫学研究(小林、切替)(表28、表29、
図8)

1. 国立国際医療研究センターで診療している外国人結核患者は2007年以降の6年間で178名であり、3年ずつの前後半に分けてその臨床像について検討した。前半は2007-2009年で95例、後半は2010-2012年で83例であった。前半と後半を比較し、国籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。性別ではフィリピンの女性の増加が目立っていた。なお、新宿区の外国人居住者数については、国籍別にみると、最近3年間で韓国または北朝鮮の減少、中国の増加がみられ、韓国または北朝鮮と中国がほぼ同数となり、他国と比べて圧倒的に多数であった。職業では学生と主婦が減少し就労者が増加した。入国時期は結核診断の1年以内が24%から30%へと増加傾向であり、また、治療成績は改善し、脱落者は5名(5.3%)から3名(3.6%)に減少した。薬剤感受性については、外国人133名と日本人1300人の結核患者の検

査結果を比較した。2007-2009年では外国人結核でRFP耐性率が有意に高く($p=0.003$)、2010-2012年では外国人結核で多剤耐性率が高い傾向がみられ、全体の2007-2012年を総合すると外国人結核では日本人結核と比較して、RFP耐性率($p=0.002$)と多剤耐性率(0.018)が有意に高値であった。

結核菌の分子疫学解析に関しては、2001年2月から2012年6月までに、国立国際医療研究センターにおいて診療した東京に在住している外国人および日本人結核患者由来の結核菌259株(外国人由来91株、日本人由来168株)の全配列を決定し、得られたIlluminaの配列はDDBJに登録した(accession No. DRA001219)。本研究で解析した全臨床分離結核菌259株は、Beijing lineage(70.3%)、Euro-American lineage(17.8%)、Indo-Oceanic lineage(8.9%)およびEast African-Indian lineage(3.1%)に分類された。しかし、その遺伝系統における外国人由来株と日本人由来株の比率は全ての系統で有意に異なった

(表 2 9)。特に、外国人由来株の大部分は Beijing lineage (47.3%)、Euro-American (25.3%)および Indo-Oceanic (20.9%)だったが、日本人由来株は 82.7%が Beijing lineage だった。また、Beijing lineage の中で、外国人由来株では 67%が modern 型であるのに対し、日本人由来株では 63%が ancient 型だった。図 8 は、臨床分離 259 株およびゲノム公開されている 18 株を用いた全ゲノム配列による系統樹を示す。各灰色の楕円内の臨床株は記載されている各系統 (lineage) に属した。

2. (1)大阪市における外国出生結核患者の発生動向 (下内)

外国人患者は、2008 年の 33 名以降毎年 30 名余りで推移しており、2012 年は 34 名であった。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012 年 15 名(44.1%)であった。年齢の中央値は、2008 年 33.0 歳から 2012 年 27.5 歳へと推移していた。出身国を見ると、2008 年は中国 10 名(30.3%)、韓国 9 名(21.2%)、次いでフィリピン、タイがともに 3 名(9.1%)であった。その後中国の割合が増え、韓国の割合が減少し、2012 年には中国が 19 名(56.3%)を占め、韓国は 2 名(6.3%)まで減少した。また入国から登録までの期間は、1 年未満が 43 名(25.1%)、1~4 年が 48 名(28.1%)であった。日本語学校に所属していた者の割合は、2008 年 4 名(12.1%)から 2012 年 8 名(23.5%)へと増加傾向にあった。

(2)日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診 (図 9)

日本語学校 16 校に在籍する外国出生者 2109 名に健診を実施した。日本出生および出身国不明であった 7 名をのぞく 2109 名の平均年齢は 23.2 ± 4.5 歳、14~70 歳であった。男性は 1186 名(56.2%)であり、20 代が 73.9%を占めていた。出身国は、中国 999 名(47.4%)、ベトナム 548 名(26.0%)、韓国 349 名(16.5%)、

インドネシア 50 名(2.4%)、タイ 27 名(1.3%)、その他 136 名(6.4%)であった。複数回受診者 274 名を除く 1835 名のうち、不明 586 名を除く 1249 名の入国から健診受診日までの平均日数は 116.9 ± 143.3 日、中央値 53 (3-1655) 日であった。健診の結果、結核が疑われた者は 24 名(1.1%)であった。精密検査の結果、最終的に活動性結核と診断された者は 5 名(0.2%)であった。5 名の性別は、男性 3 名、女性 2 名であり、年齢は 20~25 歳であった。出身国は中国 4 名、ネパール 1 名であり、入国から健診受診までの期間は 41~108 日で 4 か月以内に受診していた。健診時の胸部 X 線で空洞を認める者はなく、4 名が塗抹培養とも陰性、1 名は塗抹陰性で培養結果は不明であった。

(3) 外国出生結核患者由来菌株の VNTR 解析

平均年齢は、外国出生群 37.1 ± 18.7 歳、日本出生群 29.8 ± 6.8 歳、男女比はどちらも 1.8 であった。外国出生群内で、追加領域を含む 24 領域すべて一致したものはなく、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 15 例(27.8%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 1 例(1.9%)、JATA12 不一致は 38 例(70.4%)であった。一方、日本出生群内で追加領域を含む 24 領域すべて一致したのは 44 例(20.4%)、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 43 例(19.9%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 37 例(17.1%)、JATA12 不一致は 92 例(42.6%)であった。

外国出生者と日本出生者との型別を比較したところ、追加領域を含む 24 領域すべて一致したのは 2 例(3.7%)、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 12 例(22.2%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 2 例(3.7%)、JATA12 不一致は 38 例(70.4%)であった。24 領域が一致した 2 組は、49 歳ブラジル出生者 1 名(入国 8 年)と 29 歳日本出生者 1 名、64 歳ペルー出生者 1 名(入国 3 年)と 24 歳日本出生者 1 名であった。

RFLP 解析	グループ (26)	グループ (6)	その他(56)
年齢 (歳)	33	35.2	30.8
性別 男性 (%)	20 (76.9%)	4 (80%)	33 (58.9%)
国籍 東アジア (%)	16 (61.5%)	1 (20%)	27 (48.2%)
居住地 新宿区 (%)	8 (30.7%)	0%	12 (21.4%)
クラスター形成率	5/8 (62.5%)	-	4/12 (33%)
入国1年未満 (%)	10 (38.4%)	0%	21 (37.5%)
HIV陽性 (%)	3 (11.5%)	0%	2 (3.5%)
薬剤(H,R)耐性あり (%)	2 (7.6%)	0%	2 (3.5%)
肺結核 (%)	22 (84.6%)	4 (80%)	52 (92.8%)
塗抹陽性率 (%)	14 (53.8%)	5 (100%)	40 (71.4%)
遺伝子型	北京型 Modern	0 (0%)	3 (8%)
	北京型 Ancient	6 (33%)	9 (23%)
	非北京型	0 (0%)	28 (70%)

表 2 9

Lineage	Isolates from patients				p-value*
	Foreign-born		Japan-born		
	n	%	n	%	
East-Asian (Beijing)	43	47.3	139	82.7	5.80E-09
[typical Beijing	29	67.4	52	37.2	1.01E-03
[atypical Beijing	14	32.6	87	62.8	1.01E-03
Euro-American	23	25.3	23	13.7	0.03089
Indo-Oceanic	19	20.9	4	2.4	1.87E-06
East African-Indian	6	6.6	2	1.2	0.04306

* Statistical analysis done using Fisher's exact test.

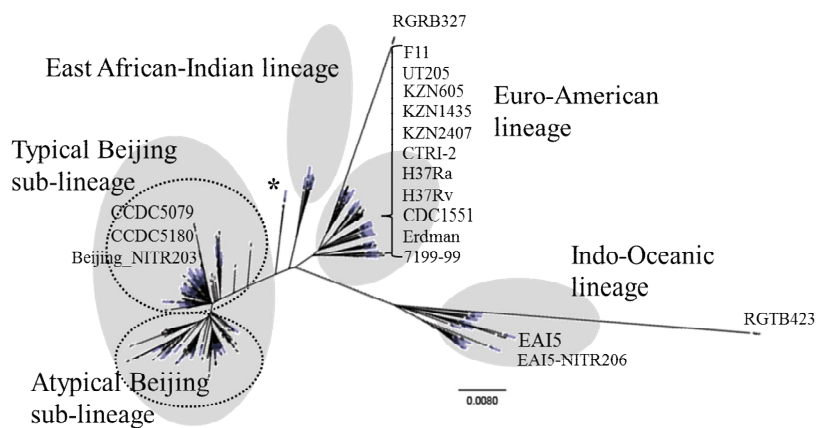


图 8

大阪の外国人結核の分子疫学解析と実態把握

大阪 (下内・小向)

学生35%と多し (うち日本語学校生50%)
日本語学校の健診重要。

結核発見率

日本語学校	日本人(大阪市)
結核の疑い 1.8% ↑	0.08%
活動性結核 0.4% ↑	

早期発見に貢献

a. 入国後1年未満	94.1%
b. 塗抹陰性割合	87.5%

日本語学校健診は
より軽症で発見

日本語学校健診受診者の推移

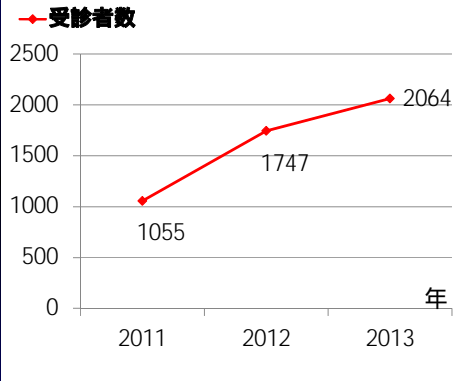


図9

・日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究 (加藤前田)

1. SNP 解析のローサイと分析法 (図 10、11、12、13)

(1) **SNP タイピング用のプローブの型別能力の確認**

リアルタイム PCR で SNP 分析する 23 箇所について、タカラバイオ (株) のサイクリングプローブあるいはライフテクノロジーズ (株) の TaqMan MGB プローブを合成した。サイクリングプローブを最初に選択し、プローブがデザインできない場合や確認実験で SNP を検出できないローカスは、MGB プローブに変更するなど再合成を試みた。そして 23 箇所すべての SNP サイトの変異を検出できる分析系を構築した。SNP 分析での野生型陽性コントロールとして H37Rv のゲノム DNA が使用できる。しかし、分析用の変異型陽性コントロールが無いので、各ローカスの変異型陽性コントロール DNA も作成した。

SNP 解析のローサイ

北京型結核菌と非北京型結核菌を区別する SNP として今まで 3284855 を使用していた。しかし、最近、中島らによって新しい 779615 部位の SNP が報告された。どちらの SNP 部位が型別に適切か検討を行った。スポリゴタイピングで北京型と判定された 318 株と非北京型と判定された 318 株について、3284855 と 779615 の SNP 分析を行い型別しスポリゴタイピングの型別結果と比較した。779615 位を使った型別では、北京型と非北京型ともすべての例でスポリゴタイピング結果と一致した。一方、3284855 部位の SNP 型別では、318 株の非北京型結核菌株の内、313 株はスポリゴタイピング結果と一致したが、5 株は本部位の SNP 分析で北京型と判定され、1.6% が不一致となった。

SNP 法による分析

日本 (東京都内: 191 株) と台湾 (210 株) で

分離された結核菌について本 SNP システムで分析した。779615 位で北京型と非北京型、北京型はさらに 1477596 位の分析で ancient と modern 型のへ型別を行い、結核菌を 3 グループに分けた。各グループはさらに非北京型は 7 箇所、北京型 ancient は 10 箇所、北京型 modern は 4 箇所の SNP 部位の分析を行った。東京と台湾で分離された結核菌について、北京型 ancient と北京型 modern についてサブタイプの存在比を比較した。

東京で分離された北京型 ancient 株は、大きく 4 グループに分けることが可能で最大グループは BJ06-II サブグループで 36.4% であった。台湾で分離された ancient 株も、4 グループに分けることが可能で最大グループは東京の場合と同じく BJ06-II で 30% であった。台湾で 20% を占めている BJ06-I と BJ07-III は日本では 2% しか存在していなかった。また、BJ04-I グループは台湾では存在せず、日本だけで存在 (全体の 19.2%) する型の結核菌であることがわかった。

日本の modern 株の分析では、BJ09 (72.1%) と BJ11-III (23.3%) の 2 グループで大部分を占めていた。台湾の modern は BJ09 型が 45.6% で最も多く、他に 4 つのサブタイプが存在した。また、BJ11-IV 型は、台湾で 11.8% 占める型であるが、日本では検出されなかった。同じ北京型 ancient あるいは北京型 modern のグループの結核菌でも、分離された地域によってサブタイプの種類やその割合が異なることが明らかになった。

今までの型別法では NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、北京型結核菌は ancient 型と modern 型の 2 グループにしか分けることができなかった。しかし、本 SNP 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

リアルタイムPCRによるSNP検出系の確立

リアルタイムPCRはシーケンスより迅速 簡便

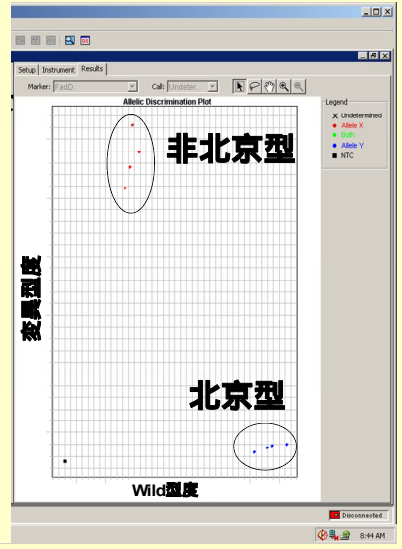
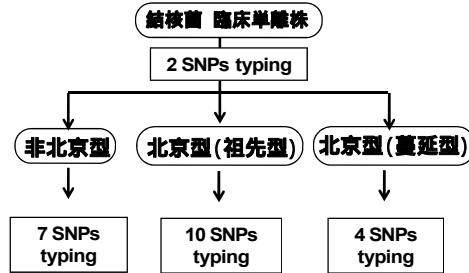


図 1 1

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

SNP解析 パイプライン



共通に利用する結核菌SNP部位23箇所を設定した

(1) 非北京型、北京型祖先型と北京型蔓延型の三つのグループに分離成功。

3284855: 北京型と非北京型を区分
1477596: 北京型蔓延型と祖先型を区分

(2) 次にグループ毎に分析。
非北京型は7箇所SNP部位、北京型祖先型は10箇所
北京型蔓延型は4箇所

合計17箇所SNPプローブ設計成功

図 1 2

・アジア諸国の多剤耐性結核(表30、31)

1. フィリピンでの未治療結核患者の喀痰を用いて

DNAを抽出し、LAMP法ですべての53例において結核菌感染症を同定した。同じDNA検体の spoligotyping解析によってすべてマニラ型結核菌が検出された。

結核グループと正常人との間の最も特徴的なバイオマーカーを同定するため、多変量判別方法で判別関数解析を行った。OPN、IP-10、好中球、IL-6、IL-8、TNF α 、MCP-1、血小板、gal-9、とWBCが高い判別性があった。これらのマーカーの組み合わせによって、すべての結核患者と健常者の96.3%が正しく識別できる。

中国の結核遺伝子型を血清学的に識別するため我々は腸菌を用いてRv0679cの遺伝子を導入することによって精製した組換え蛋白質 Rv0679cを得て、ELISAを行った。またこのELISA法の結果を抗TBGL IgG・IgA抗体測定キットとの比較分析を行った。正常人に比べて肺結核患者において高値の抗Rv0679cIgA抗体が検出された。多くの肺結核患者では抗Rv0679cのLys型に対するIgG抗体は見られたがAsn型に対するIgG抗体は低値であった。また抗Asn型IgGと抗Lys型IgGの間では相関は認められなかったが、Asn型のIgAとLys型IgAとの間で相関関係($P<0.0001$ 、 $R=0.71$)を認めた。Rv0679cのタイターと臨床バイオマーカーとの分析を行い、Rv0679c-LysのIgGのタイターは、炎症性因子であるC反応性蛋白質レベルと相関していることが分かった。

我が国の感染者の潜在性結核感染者(L)と結核患者(T)のリンパ球を用いて、種々の結核菌由来抗原を用いて、T-Spotを行った。ESAT-6に対する結核患者の反応は潜在性結核感染者に比べて高かった。CFP-10の反応性はESAT-6に比べて劣った。年齢とともにESAT-6の反応は下がり、ESAT-6とESAT-6/CFP-10の反応はリンパ球数に依存していることが分かった。

HBHAに対する反応は結核患者に比べて正常人グループでは有意に高かった。ACR、Ag85A、Ag85Bの陽性反応はそれぞれのグループで陽性に出たが、

有意差は見られなかった。日本など、BCG接種が日常的に使用される国では、HBHA、ACR、Ag85AとAg85Bの診断コーティリティは低いと考える。MDP-1とMDP-1H37Rvによって我々は潜在性感染者と結核感染者を鑑別できた。

2. タイ(野内)

公益財団法人結核予防会複十字病院は10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療実現化プロジェクトに2003年開始の第一期より参加協力している。検査残余検体を活用した難治性要因研究は、2014年3月現在380名より同意が得られている。再発31例、治療失敗13例、治療中断後再治療3例、多剤耐性37例(外国居住歴16例)の難治性結核症例がある。外国に関連ある結核患者での多剤耐性率はない患者に比し有意に高い。2013年は実数でも外国関連のない日本人と同一になっている。事例としては、フィリピンでスラムのボランティアをした高校生の一次MDR症例も入院している。

国際的に結核菌のlineages分類法として標準化されたThe large sequence polymorphism(LSP)とregions of deletions (RD)を活用したLSP/RD解析法では、EAI株が524人から531株(39.8%)、非EAI株として、北京株が591人より595例(44.6%)、Euro-American株が184人より187株(14.0%)、CAS株が11人より11株(0.83%)、その他9人より9株(0.68%)であった。

この結核患者1319人での1年間での死亡に関しての危険因子を示す。

Cox-Proportionalハザード比モデルによる単回帰解析で、EAI株による結核患者が非EAI株による患者よりハザード比で2.7倍1年死亡の危険が高かった。EAI株は死亡率が高い事が多い年齢が高い群で比率が大きいので、年齢やHIV感染状況、体重など死亡に影響する因子による交絡を多変量回帰で調整しても、調整ハザード比は1.75で菌株の種類の影響が独立して存在する事が示された。

EAI株の比率が高い55歳以上のHIV陰性(希に不明)の結核患者での1年生存のカプラン・マイヤー法生存曲線を示す。この群でもEAI株の比率が低い55未満の群でも有意の差で死亡率の差が認められている。

表3 0

〔 〕 アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析 (結核研究ネットワークを活用した)

中国 (服部)
 肺結核の患者においてはRv0679c-Lys (結核菌北京遺伝子型に存在する点突然変異) IgGの高値を明らかにした。(J.Clin Micro.2011)
 Rv0679c multiplex PCR法を北京型結核菌感染の新しい診断法として開発に成功。
 薬剤耐性は35%で、MDRが23%。

フィリピン (服部)
 潜在性結核のTBGL診断はQFTと相関し有用。(服部 Int.J.TLD.2012 Clin Dev Imm.2012)
 流行型結核菌がマニラ型。

タイ (野内、櫻田)
 難治性結核の分子疫学解析(野内)(Microbio.Imm.2012)
 (1) 再治療結核はRFLPパターンより外因性再感染。
 (2) 初回多剤耐性12.5%が、再発で22.5%と高。
 HIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。

表3 1

アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析

タイ (野内、櫻田)
 難治性結核250例を含む655例(マヒドン大)。北京株44%、EAI株40%、非北京・非EAI株16%。
 タイNIHとの共同研究(櫻田)
 活性化ビタミンDより活性化されるヒトM型マクロファージはHIV感染により、結核菌殺菌能低下。
 再発結核患者では血清granulysin値低下。
 (櫻田、野内、岡田、Surisin, Micro.Imm.2011)

タイでの結核患者の血清中granulysin

ベトナム (慶長)

ファムゴックタック病院 (ホーチミン市) における多剤耐性結核の宿主要因の検討

ホーチミン市58名の多剤耐性結核患者解析で、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型が低い。
 自然免疫関連遺伝子MBL2(マンノース結合レクチン)は変異型(欠損型)が、ベトナムの多剤耐性結核では高い。

3. HIV合併結核バイオマーカーとして(タイ 櫻田) 活性型マクロファージの一種と考えられる M-M においては活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムが働いていることが明らかとなった。すなわち、培養液中の十分な濃度の25(OH)D₃の存在下においてCYP27B1、VDR、cathelicidin遺伝子の発現が増幅されることが示された。また、IFN- γ はCYP27B1の発現のみを増幅した。BCG感染後一方、GM-CSF存在下に分化したGM-M は抗原呈示細胞としての性格を示し、抗結核菌活性を示さないが、活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムは働いていないと考えられた。ただし、IFN- γ によるIL-15の誘導は双方のマクロファージにおいて認められた。

結核菌感染M-M におけるdermicidin遺伝子発現の確認と活性型ビタミンD₃25(OH)D₃のdermicidin発現への効果の検討は、現在検討しているところである。

4. ベトナム人58名のプロモーターおよびエクソン領域のシーケンス解析で、15カ所の部位で塩基の違いが認められた。HapMapのアジア人(中国人および日本人)のデータから、*DUSP14*遺伝子領域はひとつの連鎖不平衡ブロック内であったが、ベトナム人においても見いだされた多型の解析から同様の結果が得られ、Barreiroらの報告した*DUSP14*のイントロン1内に存在するrs712039 SNPは、プロモーター領域にあるrs853196およびrs853197、エクソン2の5'UTR内rs1051838と完全な連鎖不平衡状態にあることが明らかになった。全血より抽出したtotal RNAから定量的RT/PCRにより、*DUSP14*のmRNA発現量と上記遺伝子配列解析で得られた各遺伝的多型との関連を検討したが、有意でなかった($P=0.57$)。一方、全血球細胞の*TNF*遺伝子発現量は、Barreiroらによるrs712039の*DUSP14*高発現アリルとして知られるCの数に依存して低くなる傾向がみられた($P=0.0121$)。

・ HIV合併

1. (永井) 2012年は、143施設中76施設(53.1%)から回答があった。総結核患者数は3502例であり、そのうちHIV合併者は10例(0.29%)であった。男性9例、女性1例であり、日本人9例、ミャンマー人1例であった。平均年齢は46.8歳(17~65

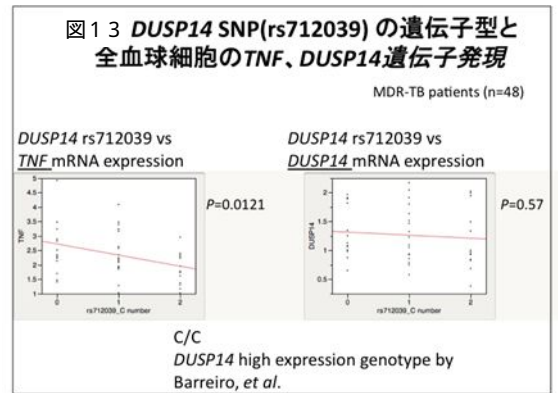


図13 . *DUSP14* SNP(rs712039)の遺伝子型と全血球細胞の*TNF*、*DUSP14*遺伝子発現

歳)であった。肺結核5例、肺外結核6例(粟粒結核2例、リンパ節結核3例、腸結核1例;重複あり)であった。

結核発病同時あるいは発病後にHIV陽性と判明した症例は4例(40%)であったが、他は記載がなかった。抗HIV療法(ART)を受けていて結核を発病した症例が1例あった。

有症状により結核が診断された症例が9例であり、1例は定期健診発見であった。

CD4数の記載のあった9例ではCD4数の平均値は172(7~765)/ μ lであり、CD4数別の患者数の分布を見ると、CD4数200/ μ l未満の症例が7例(77.8%)、100/ μ l未満の症例が5例(55.6%)と免疫機能低下例が多かった。

結核菌の耐性なしは9例、記載無し1例であった。今回の調査ではMDR-TB例はなかった。

結核の治療は、HREZ 7例、HEZ-RBT 2例、HREL 1例であった。

結核薬による副反応について、10例中、副反応ありは4例(40%)と高頻度であった。おもな副反応は肝機能障害(1例)、肝機能障害と発熱(1例)、血球減少(2例)であった。対処法の記載があった症例は、減感作療法1例、薬剤の変更1例であった。抗HIV薬による副反応について回答があった8例中、副反応ありは1例(12.5%)であり、結核薬による副反応よりも少なかった。

結核の治療中にARTを開始した症例は7例あり、結核の治療開始後5週~11ヵ月後に開始して

おり、12週以内に始めた症例が4例あった。ARTの内容が分かっている7例の治療内容では、key drugとしてraltegravir（4例）、efavirenz（2例）、が用いられていた。前年同様、raltegravirが多かった。免疫再構築症候群は4例に認められ、ステロイドの投与2例、NSAD投与1例、経過観察1例が行われた。

結核の転帰が判明している例では、治癒5例、治療中3例、死亡1例（すべての治療を拒否）であった。

2. 全国のHIV合併の結核患者と多剤耐性結核の症例数調査。全国保健所、結核病院、HIV診療拠点病院に一次アンケート調査。現在集計解析中。（藤田）

一次調査の結果

各調査年別の回収率は、結核医療機関は40.9%、HIV拠点病院（結核病床を有さない）は61.9%、保健所の82.7%と、保健所からの回収率が高かった。結核医療機関については、25年度には235施設と年々減少し、また結核患者の受け入れを休止した医療機関もあることから回収率が低かった可能性はある。

国立病院機構の病院を除く医療機関から報告されたHIV感染合併結核の症例数は、平均で年9例、うち多剤耐性結核は0例であった。

一方、保健所を対象とした調査からは、結核新登録患者のうちHIV感染合併結核症例の0.28%であった。多剤耐性結核は2012年の1年間で1例であった。

(2) 二次調査の結果

HIV感染合併結核症例を有する医療機関に対して二次調査を行った結果、2012年に診断された25例の症例調査票が回収された。男性23例、記載なし2例と、ほとんどが男性であった。外国人は3例で、出身国は東南アジアが2例、中国が1例と、結核高蔓延国であった。何らかの検体で結核菌陽性（塗抹陽性または培養陽性）であったものは23例で、菌が確認されている例が大多数であった。多剤耐性結核は1例、INH単独耐性1例、SM単独耐性1例、で多剤耐性結核1例は中国人であった。

(3) 結核医療機関における結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率（25年度単年度調査）

HIVスクリーニング検査の実施率について、101施設に対する概数選択方式によるアンケート調査結果を示す。56.4%の施設ではHIV検査を「ほとんど実施していない」と回答した。「ほぼ全例」は7施設6.9%で、60%以上と80%以上実施を併せても10施設9.9%であった。

3. HIV合併結核症例129例は（1996～2010）、男性117例（90.6%）、平均発症年齢 39.3 ± 11.3 歳で、31例（24.0%）は外国籍であった（表3 2）。（青木）当院通院中に発見された例が35例（26.5%）で、89例（67.4%）は結核発症を機にHIV感染が判明していた。発症時平均CD4数は $165.3 \pm 158.3/\mu\text{l}$ 、平均HIV-RNAは $5.53 \pm 5.98 \log \text{copies/ml} (\pm \text{SD})$ であった。当センターの平成21年度の初診患者225例を対照として比較すると、性別、年齢、及びHIV-RNA量は有意差を認めないが、CD4数は結核群で有意に低値であった。

薬剤耐性試験が施行された102例のうち12例（11.8%）に、薬剤耐性（INH 5例、RFP 3例、その他 6例）を認めた。多剤耐性（INHとRFP）は2例（2.0%）のみであった。

抗結核薬で有害事象を生じた症例は、128例中70例（54.6%）であった。その内訳は、INH 13.4%、RFP 26.1%、RBT 17.6%、EB 14.3%、PZA 18.1%、キノロン 21.2%（重複有）と、RFPが最も多かった。年齢、性別、国籍、体重、CD4値、HIV-RNA量と抗結核薬の有害事象について検討したところ有害事象発生群では、有意に体重が軽く、CD4値 <100 の症例が多いことが判明した。

結核症自体の経過はおおむね良好であり、結核を直接の原因とする死亡の症例はなかった。経過中に死亡した7例はいずれも、結核以外のエイズ関連疾患での死亡であった。

129例の症例の中、結核発症時に抗HIV療法を施行していなかった症例が105例中で、抗結核治療導入後に抗HIV療法の導入を確認できた症例が74例であった。74例のうち、免疫再構築症候群を生じた症例は5例であった。5例中2例では抗HIV療法の中断を余儀なくされた。4例でステロイドの使用を認めた。5例ともHIV・結核の経過は良好であった。

(2) 登録患者数は149例で（2011～2012）、男性が140例（94%）、年齢の中央値は38歳（18-63）、国籍は日本131例（87.9%）、男性同性愛者126例

(84.6%)、CD4の中央値は240(4-819)であった。同期間の当院の新規HIV患者は220例で、その患者背景と有意差はなかった。149例中に活動性結核4例(2.7%)、潜在性結核4例(2.7%)を認めた。

QFT-3Gの判定結果は、陽性例7例(4.7%)、判定保留11例(7.4%)で、日本国籍131例に限ると、陽性例は5例(3.8%)、判定保留8例(6.1%)であった。判定不可は、8例(5.4%)で、全例QFT-3G施行時のCD4値が50/ μ L以下であった。QFT-3Gの判定別の患者背景を見ると、判定不可群で有意にCD4値が低い以外には、年齢、性別、国籍、および感染経路に群間差はなかった。

QFT-3G陽性例7例中、活動性結核が3例、潜在性結核が4例であった。活動性結核例は、全例標準的結核治療に反応し奏功したが、QFT値は必ずしも低下を認めなかった。潜在性結核例は、全例イスコチン300mg/日にて9ヶ月治療を行ったが、QFT値は必ずしも低下を認めなかった。

判定保留例11例では、1例は活動性結核(QFT値0.30)、1例は判定保留持続、7例は以後2回連続陰性、1例は2・5回目が陽性で3・4回目は陰性と

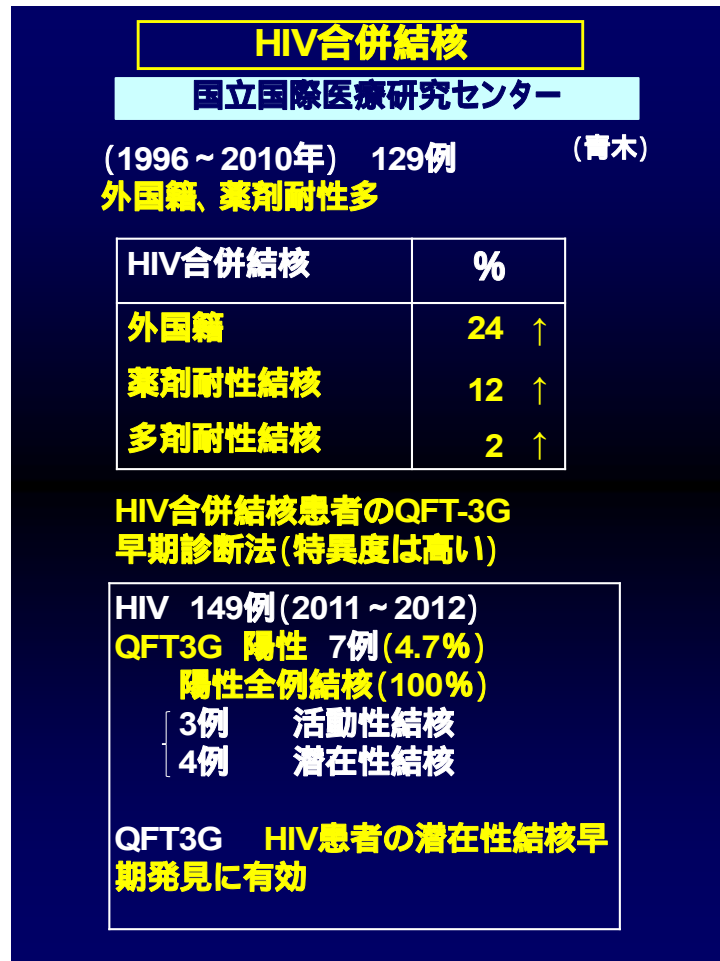
なった。2例は追跡不能であった。

判定不可例8例では、抗HIV療法を開始後、全例でQFT判定可能となった。CD4 1桁(CD4値 4/ μ L)でも判定可能な症例を認めた。また、1例は判定可能となった後にQFT陽性となった。

陰性例は123例で、初診時の胸部単純写真上で、明らかな結核患者は認めなかった。QFT施行後1年間経過観察を施行し、明らかな結核発症例は認めなかった。陰性例の1例でQFT陽転化を生じた。この症例では、吃逆の精査時にQFT陽性と判明した(初診時QFT値-0.13 8か月後5.1)。気管支肺胞洗浄液などにて精査するが、確定診断は得られなかった。抗酸菌症については、各種検体で塗抹・培養・PCRともに全て陰性であった。抗酸菌症の治療は導入しなかったが、症状、画像、QFT値とも改善傾向となった。

QFT-3Gの判定結果は、陽性例0例(0%)、判定保留例2例(7.7%)、判定不可例1例(3.8%)であった。T-スポットTBIは26例全例で陰性であった。HIV合併活動性結核症例は当該期間に1例で、両IGRA共に陽性であった。

表3 2



・新しい迅速診断の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田)
331例のうち、培養陰性であった8例を除く323例で比較検討を行った。ジェノスカラーRif-TBでRFP感受性と判定されたのは308例であり、307例は通常の薬剤感受性検査でもRFP感受性であったが、1例はMGIT法では感受性であったが小川比率法では耐性であった。この例は臨床的には排菌陽性が遷延しておりRFP耐性と考えられた。また、ジェノスカラーRif-TBでRFP耐性と判定された15例中、14例はMGIT法・小川比率法いずれもRFP耐性であったが、1例はMGIT法で感受性であった。RFP耐性の14例中11例(78.6%)はINHにも耐性を示す多剤耐性菌であった。
 2. 多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpoB変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、露口、岡田)。現在この方法を6施設に普及した。これの普及をさらに進める。
 3. 細胞外マトリックスを構成するヒアルロン酸の肺における蓄積を結核菌感染後に解析した。ヒアルロン酸合成酵素hyaluronic acid synthase 1 (HAS1)、HAS3の機能を解析するため、遺伝子欠損マウスを作製し、結核感染に対する感受性を解析した。
 4. これらの上記の新しい迅速診断法の普及を国立病院機構呼吸器ネットワーク65施設を用いて行う予定である。幸い当院はこの65施設呼吸器ネットワークグループリーダーを岡田が担当している(図14)。
- ・外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集(図15)
中国Heping博士、韓国Cho博士、タイSrisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。中国のMDR-TBの頻度(特に上海)等や対策の情報をすでにHeping博士より入手した(図15)。

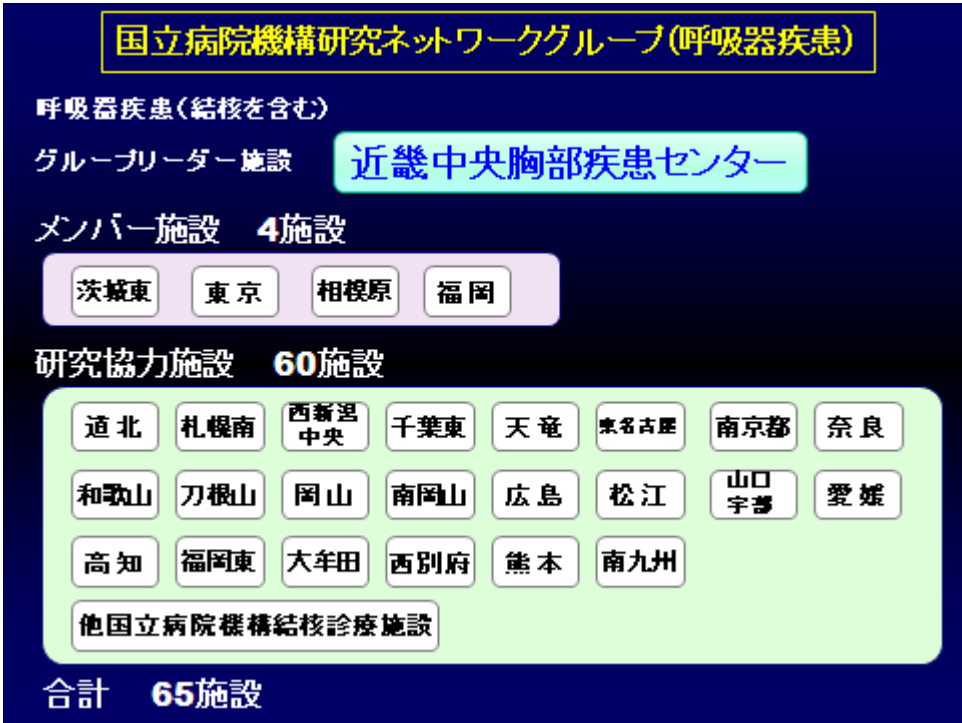


図14

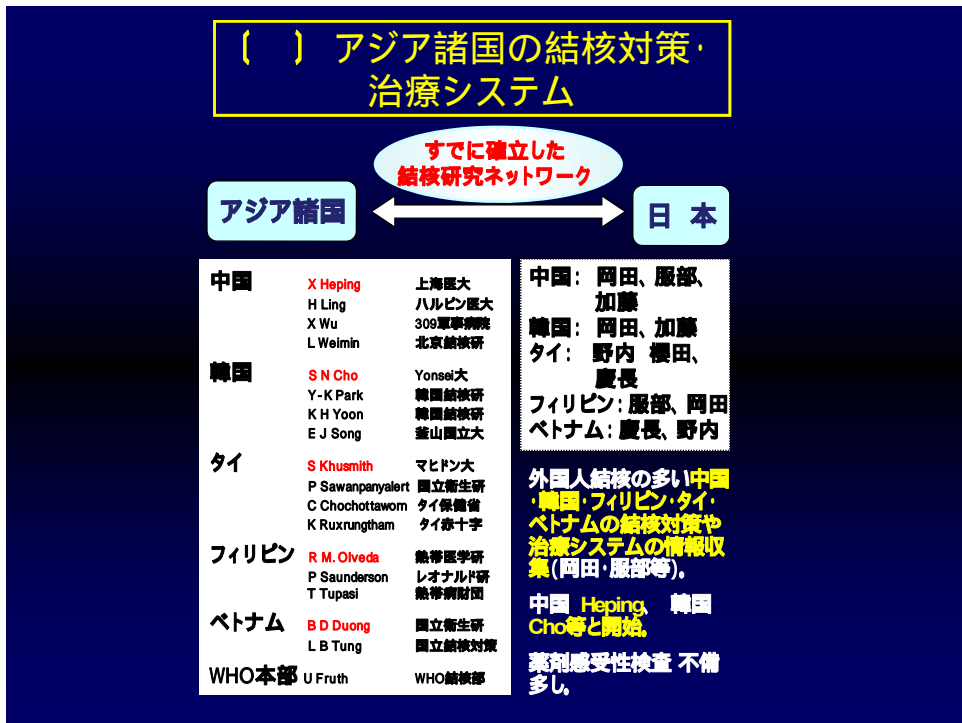


図15

表3 3

行政施策への貢献

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした、各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国(中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム)の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学(全ゲノム解読)解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

D. 考察

行政施策への貢献(表33)

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題(表33)

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国(中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム)の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学(全ゲノム解読)解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

(1) 外国人結核の問題点

外国人結核の問題点として「外国人結核：医療上困難であった問題点と対応」に記載された問題点をまとめた。この指摘の問題点は当班が初めて詳細に調査したものとする。

まとめると、5つの大きな問題点がある。

- (1) 言葉の問題
- (2) 転帰としての治療途中の帰国(不法滞在等)
- (3) 食事の問題(宗教上)
- (4) 生活習慣の違い
- (5) 経済的な問題

である。

- (1) の言葉の問題として、通訳対策の重要性が明らかとなった。翻訳パンフレットは英語と中国語は多く(24%~35%)認められた。一方、外国人結核の多い韓国語、ブラジル人のポルトガル語、フィリピン人のタガログ語は0.4%~7.1%と非常に少なく大きな問題点であった。今後これらの韓国語、ポルトガル語、タガログ語の翻訳パンフレット作成が重要であるとする。
- (2) 転帰としての治療途中の帰国は12%も存在し、大きな問題点である。さらに連絡(国外の

みでなく国内においても)が非常に困難であることが調査の結果、明白となった。

(3) 食事の問題について：宗教上の理由により豚肉等の摂取困難が多く報告された。

(4) 生活習慣の違いで、うつ状態になる報告も多く認められた。このうつ状態等による服薬が順調にいかないことも示された。

(5) 経済的な問題も深刻である。結核と判ると退職させられるかもしれないとの思いを多くの外国人結核患者が抱いているようである。

一方、これらの障壁に対し、通訳などの積極的なサポートがなされている。職場、学校などでの通訳が45.7%にものぼり、又友人・知人の通訳サポートが19.2%認められた。これらの対応をさらに進展させるとともに、外国人結核に対する新しい治療剤の開発(デラマニド等)の可能性が示された。(岡田)

- (2) 外国人由来の特定結核菌株が蔓延。輸入感染症蔓延対策により厚生行政に貢献。

国立国際医療研究センターで経験した外国人結核患者由来株87株のRFLP解析によると、そのうち29%は相同性70%以上のクラスター

(グループ)を、5%はクラスター(グループ)を形成していた。「グループ」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループでは薬剤耐性率やHIV陽性率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がり公衆衛生の上で脅威となりうる。今後は、外国人結核患者の対象患者数を増やし、臨床情報と菌の解析から、外国人の結核が日本国内で感染したのか、あるいは蔓延国から国内に持ち込んだのか、後者の場合は日本人への感染はあるのか、という課題に取り組んでいく予定である。(小林、切替)

- (3) 北京型結核菌と非北京型結核菌を区別するSNP部位に関して検討した結果、3284855位の分析では一部の非北京型結核菌が北京型と判定され、本部位のSNPは結核菌のLineage-2の分岐と関

連していることが明らかになった。一方、最近報告された779615位の変異は、北京型結核菌の定義であるスポリゴタイピングの結果と一致していることが本研究から確認できた。そのため、今までは、3284855位を北京型と非北京型を区別するSNPとして使用していたが、今後は779615位を用いて分析することにした。また、3284855位は、引き続き非北京型結核菌のSNP型別に利用することにした。

完成した23箇所のSNP分析システム（各ローカスは、野性型と変異型の2種類のプローブ、PCRプライマー、変異型用コントロールからなる）及び分析用試薬を既に各国の施設に送付した。各施設では、地域内で分離された結核菌（200株以上）を分析し、得られた型別データを平成26年5月までに提供してもらうことで合意を得ている。このように、共同研究によって共通な手法を利用してそれぞれの地域の結核菌を解析することで、各国で広まっている結核菌を直接比較することができる。その結果、それぞれの地域での特徴を明らかにすることができる。今後、本システムの有用性が確認され、本会議参加国だけでなく他のアジアの国々で広く活用できるようになれば、各地域における結核菌の伝搬状況や由来地域等の推定に関する研究も飛躍的に進展すると期待される。（加藤、前田）

- (4) 新宿区は東京都のなかで最も多くの外国人結核患者を診療しているが、外国人登録者の絶対数が多いのがその原因と考えられる。また、国籍別では韓国人のコミュニティーが存在するため、韓国人の結核患者の率が大きいのが特徴といえるが、最近では韓国人の減少、中国人の増加がみられている。国立国際医療研究センターにおいて最近6年間で診療を行った外国人結核患者は、20～30歳代の若年者が多く、女性の割合が日本人結核患者と比較して多くみられたが、この傾向は以前の調査と同様の傾向であった。本年度は6年間で前半3年と後半3年に分けて、その差について検討した。特徴的なことは、韓国人とくに韓国人女性が減少し、フィリピン人が増加していることである。職業については学生と主婦の率の減少がみられている。治療成績については、後半では脱落例が減少し、外国人結核対策強化の効果と考えられる。結核菌の薬剤耐性に

ついては、RFP耐性と多剤耐性の率が日本人と比較して高率にみられた。外国人結核患者の多剤耐性率は1.5%であり、統計学的に日本人結核より高いが、全国集計の4.4%に比べて低かった。その原因は明らかではないが、本研究は1病院における結果であり、集計数が少ないための誤差である可能性もある。また、外国人結核といっても日本の地域により国籍や職業、滞在年数などが異なるため、薬剤耐性率や多剤耐性率についても地域により異なる可能性がある。今後はより細やかな疫学データの集積が必要であると考えられる。

本研究では、分子疫学解析研究で得られた遺伝子配列、患者情報、系統樹の解析によって、臨床分離結核菌株の特徴を明らかにした。まず、今回解析した外国人由来91株および日本人由来コントロール168株において、両者は異なる遺伝系統の結核菌に感染していることが示された。さらに、日本国内において外国人と日本人は異なる結核菌に感染し、各コミュニティーで維持されていることが示唆された。同時に、外国人あるいは旅行者を通じて、これまで国内に存在しなかった新たな表現型を持つ結核菌が、国内に持ち込まれる可能性が示された。（小林）

- (5) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向（下内、小向）

全結核患者に占める外国人結核患者の割合は年々増加しており、特に20代で外国人の占める割合が高く、2012年には29.3%に達していた。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2013年の日本語学校健診受診者の平均年齢は23.2歳と若く、入国から健診までの中央値は53日であった。最終的に活動性結核であった者は5

名(0.2%)であり、健診時胸部X線で有空洞例はなく、すべて塗抹陰性であり、早期発見に寄与していると考えられた。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析
外国出生者内で24領域一致したものは1例もなかったが、日本出生者内では44例(20.4%)と日本出生のほうが有意に高く、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。日本出生と外国出生で24領域が一致していたのは2組4名であったが、疫学的なつながりは見いだせなかった。

(6) SNP分析で各国、地域で分離された約200株の結核菌解析を行った。各国を代表できる結核菌株を選択。さらに細区分できるVNTRシステムを構築。簡易ラインプローブ・アッセイ系構築。(加藤、前田)

(7) 中国・フィリピンとの結核ネットワーク研究を活用した多剤耐性結核の分子疫学低解析：
フィリピンでは近代以降の数百年間に、中国人、日本人、スペイン人などがフィリピンと交流し、様々な結核菌型の輸入に影響を与えた可能性があると考えられる。しかし、ここで示した均一な菌の流布は結核がむしろ小さいコミュニティの中で伝染しているとも考えられる。またマニラの中心に居住する患者は古くからのフィリピン在住人である可能性が高い。

潜在性結核の休眠期で発現する

Mycobacterial DNA binding protein 1 (MDP1) は全細胞タンパク質の7%の主要な細胞タンパク質である。我々の結果を踏まえて MDP-1とMDP-1H37Rv抗原は、潜在性結核感染の診断に用いられることが期待される。

多数の北京型結核に感染している中国では、大部分の患者は北京型結核特有なタンパク質 Rv0679c Lys142に対する免疫を生ぜるといふ推測が上海のサンプルの実験に示された。すなわち、45人中、24人はRv0679c Lys142に対する高いレベルのIgGを検出した一方、4人はRv0679c Asn142 IgGを検出できなかった。しかし、上海のサンプルの菌株を同定できず、Lys142 IgGで北京型結核を診断できるという直接の証拠は得られなかった。Rv0679c Asn142とLys142両方に対するIgA抗体を検出した。Rv0679cの抗体ではクラススイッチを生ずる可

能がある。さらに、マウス抗体を用い Rv0679cをepitope mappingして、2つのepitopesを発見した。つまり、Rv0679c Asn142とLys142の共通epitopeであるRv0679cの31-50アミノ酸間の直線epitopeとRv0679c Asn142Lysを含む conformational epitopeである。ちなみに、人間でもRv0679c IgAは共通epitopeを認識するばかりか、Rv0679c IgGはAsn142とLys142それぞれ conformational epitopeを識別できると期待される。そのうえ、Lys142 IgGはCRPに相関があるのは北京型結核感染が炎症を関連しやすく、重症をもたらすと考えられた。(服部)

(8) タイでの結核・HIV対策ネットワーク共同研究：菌体分類が年齢や薬剤耐性の頻度と共に予後と関連している可能性が示唆された。タイで、今回の結核菌LSP/RD分析はSpoligotypingで確認さてるが、別プロジェクトであるSNP解析や次世代シーケンサー解析でも確認し比較する事が望まれる。臨床情報を活用し、北京 Ancientと北京Modernも含む比較を非EAI株内部の違いを検討する必要がある。日本において、タイと同様に難治性結核の経時的な部分を含めた菌体の分子疫学解析が期待される。

複十字病院での多剤耐性結核患者で外国との関連が強くあり、日本の輸入感染症としての結核対策と関連し、諸外国で認められる多剤耐性結核を含む難治性結核の菌が日本へ伝播していると考えられる。タイ国を含めて菌体の分子疫学解析により理由を検討すべきである。菌体と宿主要因のそれぞれと相互作用の研究を症例数が大きく必要であり、日本での研究基盤が輸入感染症の検討という観点でも必要である。臨床疫学因子、細菌学的因子、免疫遺伝学的因子を測定し、それらの因子の難治化に及ぼす影響を相互作用も含めて定量化する。

複十字病院では10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療プロジェクトに協力してヒト検体も収集してきた。今回、倫理委員会の承認を得て、検査残余検体を活用した菌と人の検体バンクによる結核研究を継続している。タイ国も同様に菌と人検体を臨床データと共に長期に保存しており、並行した菌体バンクを活用して伝播の検討や比較検討などの相乗効果が期待される。(野内)

- (9) ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班で、初めてアプローチを実施している。

DUSP14は、T細胞が刺激された時、早期に発現誘導され、CD28と相互作用し、MAPKを不活化して副刺激分子からのシグナルを抑制する分子MKP6 (MAP kinase phosphatase-6)として見いだされた (Marti F, et al. J Immunol 166:197-206, 2001)。しかしながら、他のDUSPファミリーと比べてDUSP14に関する知見はまだ少なく、その発現や役割に関しては不明な点が多い。

Barreiroらは、健康成人末梢血から誘導した単球由来樹状細胞 (非刺激時) において、*DUSP14* rs712039の遺伝子型と*DUSP14* mRNA発現量が関連することを見いだして報告したが、結核菌暴露後の同細胞では有意差がみられていない。我々の多剤耐性結核患者の全血由来のtotal RNAからの検討では、遺伝子型とmRNA発現量に有意な関連がみられず、それぞれの細胞での、感染時の*DUSP14*の発現についてはさらに検討が必要である。

一方、今回の我々の結果から、*DUSP14*の遺伝的多型のハプロタイプとTh1系免疫関連遺伝子である *IL12RB1* mRNA発現量には有意な関連がみられており、*DUSP14*遺伝的多型によってTh1系免疫関連遺伝子発現がトランスに影響を受けているのではないかと推測される。また、既報のrs712039 SNP単独の効果より、プロモーター領域のSNPを含めたハプロタイプの方が、遺伝子発現とより強く関連する可能性が示唆されたため、プロモーター領域のSNPの機能的意義が注目される。

今回の結果から、*DUSP14*の低発現型がTh1応答の増強を通じ、結核の発病や病態において宿主に有利に働く可能性があると考えられた。最近、*DUSP14*がTAK1(TGF β -activated kinase 1)の脱リン酸化により、TNF α とIL-1によるNF κ Bの活性化を阻害することが明らかにされ (Zheng H, et al. JBC288:819-825, 2013) *DUSP14*の持つ機能が注目されている。多剤耐性結核患者において、*DUSP14*によるTh1応答や炎症性サイトカイン反応の制御がどのように病態に影響するか等については、今回

の検討では症例数が少ないため、今後、より大規模な研究で検討する必要がある。(慶長)

- (10) M-M においては、高濃度の25(OH)D $_3$ の存在による関連遺伝子の発現増幅とIFN γ によるIL-15の誘導は確認された。一方GM-M においては、対照的に発現増幅は認められず、活性型ビタミンD $_3$ による活性化に対してはマクロファージの表現型によって異なる応答が起きていると考えられる。また、これとは別に、低濃度の25(OH)D $_3$ でも結核菌の殺菌は起こるため、活性型ビタミンD $_3$ による活性化とは異なるメカニズムの存在が想定される。dermicidinによるものかどうかは、現時点ではまだ確認できていない。また、dermicidin遺伝子の発現に対する活性型ビタミンD $_3$ の効果については現在検討中である。(櫻田)

- (11) 今回の調査では、2012年の総結核患者数は3502例であり、そのうちHIV合併者は0.29%であった。HIVの陽性率は例年よりも低かった。HIV合併MDR-TBは認められなかった。ARTよりも結核治療による副作用が多く、結核治療の導入に難渋し、ARTの開始時期が遅れている傾向があった。結核治療中のHIV療法としてはkey drugとしてraltegravirが主流になっているようである。今後、症例の集積を続け、MDR-TBの増加が見られるのが注視する必要がある。(永井)

- (12) 今年度も、日本国内における調査においてHIV感染者の間に多剤耐性結核が蔓延している状況はないと考えられた。しかし、多剤耐性結核1例 (中国人) の存在が確認されており、今後の動向には引き続き注意を要する。

今年度実施した結核医療機関に対する結核入院患者のHIV検査実施状況調査によると、患者の60%以上に検査を実施しているのは1割未満の医療機関であり、外来のみの患者の状況はさらに低いと推測されることから、結核患者における正確なHIV感染の有無を把握することが今後の課題である。HIV感染と多剤耐性結核に関するWHOの検討において、多数例がHIV検査結果不明であると付記されており、HIV検査未実施は世界的な懸案となっている。

現在、日本の結核登録情報システムにおいてHIV合併例の統計は取られており、本調査の結果は概ね結核登録情報システムのデータと同様

の傾向であるが、保健所側からはHIVの有無に関しては把握しきれていないと指摘されている。ただ、医療機関に対する調査のHIV感染結核合併頻度と比較しても、行政レベルの統計と大きな差はないように思われた。今後は結核登録情報システムを活用あるいはそれを発展させた仕組みに基づいて、多剤耐性結核とHIV合併の実態を把握することは可能であろう。その前提としては、前述のように結核患者における正確なHIV感染の有無を把握することが重要であり、そのためには結核患者に対するHIV抗体検査を保険適応とし、保健所においてその結果を把握できるようなシステムを構築することを提案したい。(藤田)

- (13) 国立国際医療研究センター病院：(1)海外でのHIV合併結核患者の死亡率は20-30%程度と高率であるのに対し、当センターでのHIV合併結核患者の予後は良好で、結核による死亡例は存在しなかった。これは、本邦における医療機関へのアクセシビリティの良さやテイラーメイドな医療によると考えられる。喀痰好酸菌塗抹陽性例は、12週間の治療後も20%の症例で塗抹陽性で、HIV合併症例では排菌陰転化に時間を要することが判明した。抗結核薬による有害事象は半数以上の症例で認められ、CD4が100/ μ L未満の症例で優位に多かった。免疫再構築症候群を生じた症例と生じなかった症例を比較検討すると、生じた症例群で、有意にCD4数が低く、HIV-RNA量が高いことが判明したが、症例数が少なく更なる症例の集積を要すると考える。
- (2)当院における新規HIV感染者149例中のQFT陽性率は4.7%で、陽性例は全例活動性結核また

は潜在性結核の診断となり、QFT-3Gの特異度は高い。

新規患者でQFT-3Gを施行することにより、149例中で4例の潜在性結核の患者を発見することができた。HIV患者に初診時にルーチンでQFTを施行することで、結核発症率が高いHIV患者で結核を早期に発見できる可能性がある。

判定不可症例では、抗HIV療法開始後にCD4値50/ μ LとなりQFTが判定可能となるまで、QFTを施行すべきである。

HIV患者におけるQFT判定保留の扱いについては、結核を無治療にて経過観察中に、QFT-3Gの結果が変動する症例が多い。米国では判定として判定保留を用いておらず、今回の判定保留症例11例は、米国の基準では全例陰性となることも考慮すると、判定保留例については慎重な臨床診断と経過観察を要すると考える。

(3)本年度は2種類のIGRAの比較検討試験を施行したが、T-スポットTBの方が陰性になりやすい傾向が示唆された。(青木)

- (14) 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の普及と自動化。

本法の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られており、また多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法としても有用であると考えられた。

- (15) 中国から日本の移民にスーパー・スプレッダー多剤耐性結核を我々は世界で初めて発見した。(日本のみならず中国のある都市にも12%でスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌が存在することも我々は発見)(鈴木、露口、岡田)

E. 結論

. 日本の外国人結核

1. 外国人結核対策のガイドライン（国際的な協力も含め）を策定した。東京及び全国の外国人結核（2009年～2011年）の外国人結核診療マニュアル（第二版）を策定（小林、岡田等）。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定（小向、下内、岡田等）。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン（中国、Heping 博士等と）の作成が進展中。

2. 日本全国：2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009～2011年の調査票送付（外国人結核）。90%の回答。2121例（重複なし）を解析（岡田）。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに（2006年～2008年）外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。通訳を増加（行政サービス15%）。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。（結核2012,2013, U W Conf 2012）

（岡田）さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌（S・S多剤耐性結核菌：我々が世界に先駆けて発見）が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S多剤耐性結核の患者の中国と日本の移動が示唆された。

神戸市の外国人結核（藤山理世・岡田）51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。

3. 国立国際医療研究センターにおける外国人結核と分子疫学研究：国際医療研究センターの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐

性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌168株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。

東京都の外国人結核対策マニュアルを作成（2013）。（小林、切替）

4. 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008～2012年に大阪市で新規登録された外国人（外国出生）結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名（44.1%）であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

大阪市の外国人結核対策マニュアル（2013）を作成。

. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. 東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では、多くの人が観光・ビジネスでそれぞれの国を訪れている。その際、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。日本では結核患者の約5%が外国出生であるが、結核菌の由来を明らかにすることは対策上重要であることから、それぞれの国内で広まっている結核菌の特徴を調べて比較することにした。東アジアでは結核罹患率が先進諸国に比べて高く、結核菌の型別では台湾を除

き北京型結核菌の割合が高いなどの特徴を持っている。各国の分子疫学担当者と会議を持ち、各国で広まっている結核菌の遺伝的系統の違いを明確にするために、次世代シーケンサーを用いた解析から報告されている一塩基多型 (SNP) 分析法を利用した型別法で結核菌の解析を行った。本研究で樹立した SNP システムは、リアルタイム PCR を利用して 23 箇所の SNP を検出するもので、結核菌を網羅的に解析することができる。今までの型別法では、北京型結核菌は NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、ancient 型と modern 型の 2 グループにしか分けることができなかった。しかし、本 SNP 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると、少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。このような解析により、各国で広まっている結核菌の特徴を明らかにすることができるので、今後注目する結核菌が由来した国等の推定も可能となると考えられる。

2. VNTR の MST 解析で、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”、中国は北京型の“蔓延型”、韓国は RD181 陽性、台湾は非北京型で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)

. アジア諸国の多剤耐性結核

1. 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例 (95%) は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013) (服部)
2. フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012) (服部)
3. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。初回MDR-TB 12.5%が、

2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。(野内)

4. ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro. Imm. 2011)。HIV感染は、ビタミンDのM活性化を阻害し易結核感染(タイ)。ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニュリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) さらに、結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に参与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討した。(タイ・ベトナム 櫻田)
5. ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。結核感受性遺伝子の候補の一つとして注目され、機能的には細胞内シグナルに対して負の制御を行う脱リン酸化酵素であるdual specificity phosphatase 14遺伝子(DUSP14)の遺伝子多型と免疫関連遺伝子発現に関する検討を行った。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランス的作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。(慶長)

. HIV合併

1. 国立病院機構(NHO)病院144施設に対して調査票を送り、HIV感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。HIV合併結核症例の解析。2007~2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例(0.42%)とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。(永井)
2. 全国のHIV(エイズ)診療拠点病院、結核診療医療機関(国立病院機構を除く)、保健所を対象に、2012年におけるHIV合併結核およびそのうち多剤耐性結核症例の有無に関する調査を行った。その結果、HIV合併結核うち多剤耐性結核はこの1年間で1例(中国

人)のみであり、国内のHIV感染者の間で多剤耐性結核が蔓延している状況はないと考えられた。医療機関からは合計32例のHIV合併結核症例が報告された。一方、保健所からの報告では結核新登録患者のうち0.28%がHIV合併結核であると報告された(多剤耐性結核は1例)。結核医療機関における結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率は「ほぼ全例実施」が7施設6.9%と少なく、今後、多剤耐性結核とHIV合併の実態を正しく把握するためには、結核患者においてHIV感染の有無を確認する必要がある。(藤田)

3. 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い): HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。 LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、インターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。HIV感染が判明した時点で、インターフェロン 遊離試験を施行することは、結核症の早期診断に有用である。CD4値50/ μ L以下の症例では、判定できない症例も認めるため、抗HIV療法による免疫能の改善で測定可能となるまで検査を繰り返し施行することが望まれる。(青木)

.新しい迅速診断の開発・新治療剤(化学療法剤等)の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田、露口)
多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン(RFP)耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速なスクリーニング

法として有用であると考えられた。

2. 結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1, HAS3の発現が、結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で亢進した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1の遺伝子欠損マウスは結核菌感染に対して高感受性であった。(竹田)

.外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。

・研究代表者(岡田全司)(表1, 2, 3, 4)

- (1) 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年~2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping博士等)の作成が進展中。
- (2) 日本全国: 2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009~2011年の調査票送付(外国人結核)。90%の回答。2121例(重複なし)を解析(岡田)。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。
〔さらに(2006年~2008年)外国人結核調査票と比較解析: 前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕:
日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応(大阪市等)。通訳を増加(行政サービス15%)。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。(結核2012, 2013, U W Conf 2012)
- (3) 東京病院(豊田恵美子・岡田)では外国人結核50例解析。有空洞40%。多剤耐性結核2%。
- (4) 神戸市の外国人結核(藤山理世・岡田)51

名/年。20代39%。学生36%。日本語学校
健診必要。

- (5) 中国からの日本移民にスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核(MDR-TB)発見。
- (6) 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin、フィリピン Dayrit、ベトナム Thuong 博士等と確立した結核ネットワークで蓄積。

・**研究分担者 (小林信之)** 研究協力者 切替照雄
国際医療研究セの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌168株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成(2013)。

・**研究分担者 (下内昭)** 研究協力者 松本健二、小向潤
2008~2012年に大阪市で新規登録された外国人(外国出生)結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名(44.1%)であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。大阪市の外国人結核対策マニュアル(2013)を作成。

・**研究分担者 (加藤誠也)** IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。中国は“蔓延型”で、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。全23箇所のSNPを検出するためのリアルタイムPCR系を確立した。今まで北京型結核菌は、modern型とancient型の2群にしか分けられなかったが、本SNPシステムで日本の株はmodern型が5グループ、ancient型は4グループに細かくグループ分けができた。

・**研究分担者 (永井英明)** HIV合併結核症例の解析。2007~2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例(0.42%)とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。

・**研究分担者 (藤田明)** HIV合併結核を調査。全国531保健所、248結核病院(国立病院機構を除く)、230 HIV診療拠点病院(国立病院機構を除く)を対象。2007~2011年菌陽性121例(二次調査)中、多剤耐性結核1例(0.8%)、INH耐性8.3%、RFP耐性が1.7%(外国人)。HIV抗体検査なしの結核医療機関6割。結核病棟がないHIV拠点病院で排菌陽性疑い患者に個室や専用室を利用。

・**研究分担者 (服部俊夫)** 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例(95%)は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013) フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012)

・**研究分担者 (櫻田紳策)** ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明ら

かにした(Micro.Imm.2011)。 HIV感染は、ピタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。

ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニクリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) さらに、結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討した。

・**研究分担者 (慶長直人)** ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。結核感受性遺伝子の候補の一つとして注目され、機能的には細胞内シグナルに対して負の制御を行う脱リン酸化酵素であるdual specificity phosphatase 14遺伝子(DUSP14)の遺伝子多型と免疫関連遺伝子発現に関する検討を行った。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。

・**研究分担者 (野内英樹)** タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。

・**研究分担者 (青木孝弘)** 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い): HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、インターフェロン遊離試験の有用性を検討した。HIV感染が判明した時点で、インターフェロン遊離試験を施行することは、結核症の早期診断に有用である。CD4値50/ μ L以下の症例では、判定できない症例も認めるため、抗HIV療法による免疫能の改善で測定可能となるまで検査を繰り返し施行することが望まれる。

・**研究分担者 (竹田潔)** 結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1,HAS3の発現が、結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で亢進した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1の遺伝子欠損マウスは結核菌感染に対して高感受性であった。

・**研究分担者 (鈴木克洋)** 多剤耐性結核迅速発見法(rpo B変異)を用い、迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制構築(鈴木、露口、岡田)。この方法を6施設に普及。(結核2012)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada, M., Y. Kita, T. Nakajima, S. Hashimoto, H. Nakatani, S. Nishimatsu, Y. Nishida, N. Kanamaru, Y. Kaneda, Y. Takamori, D. McMurray, E V.Tan, M L. Cang, P. Saunderson, and E.C.Dela Cruz. The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* . 9(3):515-525, 2013.
2. Kita, Y., S. Hashimoto, T. Nakajima, H. Nakatani, S. Nishimatsu, Y. Nishida, N. Kanamaru, Y. Kaneda, Y. Takamori, D. McMurray, E V.Tan, M L. Cang, P. Saunderson, E.C.Dela Cruz, and M. Okada. Novel therapeutic vaccines [(HSP65+IL-12)DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* . 9(3):526-533, 2013.
3. Pitabut N, Sakurada S, Tanaka T, Ridruechai C, Tamura J, Aoki T, Kantipong P, Piyawarawong S, Kobayashi N, Dhepakson P, Yanai H, Yamada N, Oka S, Okada M, Khusmith S, Keicho N.: Potential function of granulysin, other related effector molecules and lymphocyte subsets in patients with TB and HIV/TB coinfection. , *International Journal of Medical Sciences*. 10(8):1003-1014. 2013.
4. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、西田泰子、仲谷均、西松志保、木岡由美子 予防接種 Q&A (B)BCG100.(結核予防ワクチン; DNA ワクチン)結核予防ワクチン(DNA ワクチン)の開発状況とその応用の可能性について教えてください。予防接種 Q&A 改訂 3 版 小児内科 2013;45 (増刊号) :281-283
5. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、西松志保、仲谷均、木岡由美子、西田泰子 結核の免疫反応「免疫学的機序からみた呼吸器疾患」日本胸部臨床 2013;72(12):1336-1345
6. 喜多洋子、岡田全司 ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた新規結核予防ワクチ

ン開発及び臨床応用に向けて 「結核 古くて新しい感染症 」2013;68(11):2479-2487
最新医学

7. 橋元里実、西松志保、岡田全司 多剤耐性結核治療ワクチンと T 細胞免疫 「結核 古くて新しい感染症 」2013;68(11):2488-2495
最新医学
8. 岡田全司.: はじめに(序論)「結核—古くて新しい感染症—最新医学. 2013;68(11):2437-2438.
9. 岡田全司、小林信之、小出幸雄: 座談会: 結核の現状・問題点と最新の知見「結核—古くて新しい感染症—」最新医学. 2013;68(11): 2439-2450.

2. 学会発表

1. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、鈴木克洋、露口一成、小林信之、切替照夫、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究). 第 88 回日本結核病学会総会 2013 年 3 月 28 日 千葉
2. 喜多洋子、橋元里実、林清二、岡田全司. 新しい結核治療ワクチンの開発(Hsp65+IL-12 DNA ワクチン)と他の薬剤・ワクチンとの相乗効果及びキラー T 細胞分化. 第 88 回日本結核病学会総会 2013 年 3 月 28 日 千葉
3. 喜多洋子、橋元里実、高見泰子、仲谷均、西松志保、木岡由美子、林清二、中島俊洋、吉田栄人、金田安史、E. V. Tan、P.Saunderson、E. C. Dela Cruz、岡田全司. 新しい結核ワクチン (HVJ-エンベロープ/Hsp65+IL-12 DNA), granulysin.及び Ksp37 ワクチンの開発;カニクイザルを用いた解析. 第 83 回実験結核研究会 2013 年 3 月 27 日 千葉
4. 喜多洋子、橋元里実、林清二、岡田全司. 結核患者血清中及び末梢血リンパ球から産生される Granulysin や Ksp37 等による結核慢性排菌や再発の予後診断法開発. 第 88 回日本結核病学会総会 2013 年 3 月 28 日 千葉
5. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、鈴木克洋、露口一成、小林信之、切替照雄、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二. 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究). 結核. 88(2):251. 2013.
6. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、西松

志保、小林信之、切替照雄、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二。海外から輸入される多剤耐性結核の調査（本邦における外国人結核に対する調査研究）。日本呼吸器学会誌。2:91。2013。

7. 木岡由美子、喜多洋子、橋元里実、仲谷均、西松志保、西田泰子、林清二、鈴木克洋、露口一成、岡田全司、小林信之、切替照夫、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二。海外から輸入される多剤耐性結核の調査（2012）（本邦における外国人結核に対する調査研究）。第111回結核病学会・第81回呼吸器学会近畿地方会

H. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む）

1. 特許取得

岡田全司、高森靖、小川一行、永田欽也
「感染症治療剤 15K granulysin」WO 03/070268
A1
2002年

岡田全司、吉田栄人、中島俊洋、松本真
「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65
DNA+IL-12 DNA」

整理番号：MED-A0504

受付番号：50501768464

特許番号：特願2005-280379

提出日：2005年9月27日

発明の名称：DNAワクチン組成物
2005年

岡田全司、高森靖、安井正文

「感染症治療剤15K granulysin」

特許取得2008年7月4日

特許4149713号

2008年

岡田全司、高森靖、安井正文

「感染症治療剤」

特許取得登録日：2012年10月31日

登録番号：（欧州特許2243489号）

2012年

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし